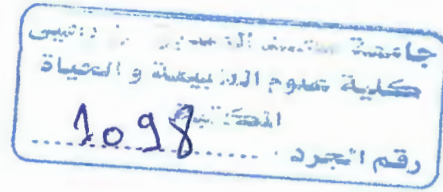


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université de Jijel



Cq. 11/07

Faculté des Sciences
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

De fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en
Biologie

Option : Contrôle de Qualité et Analyses

Thème

La qualité microbiologique du lait et du
Lben préparés et commercialisés
traditionnellement dans la wilaya de Jijel

Membres de jury :

- **Président : M^{me}. ROULA Sajia**
- **Examineur : M^r. IDOUI Tayeb**
- **Encadreur : M^r. BOUDJARDA Djamel**



Présenté par :

- **SOUILAH Yasmina**
- **ZITARI Amina**
- **LAHMAR Souâd**

Promotion Juillet : 2007

Remerciement

Au terme de ce travail de fin d'études, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur Mr. Boudjarda Djamel d'avoir proposé et dirigé ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail et de l'enrichir par leurs remarques et critiques.

Nous remercions également le corps enseignant du département de biologie de l'université de Jijel pour leur contribution dans notre formation et pour leurs renseignements précieux et multidisciplinaires.

Nos vifs remerciement vont à toute personne qui a apporté une quelconque aide aussi petite soit-elle lors de la réalisation de ce mémoire, qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance la plus chaleureuse.

Dédicace

C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je témoigne ici ma profonde et éternelle reconnaissance, à ceux qui ont lutté pendant vingt quatre ans de mon existence et qui m'ont donné l'occasion d'arriver à ce que je suis actuellement.

Je ne pourrais jamais oublier quels parents vous avez été pour moi, ni le confort que vous avez voulu toujours me ramener, ni la sagesse qui a été arrivée vos gestes et vos paroles:

A mes très chers frères : Toufik, Mourad;

A mes soeurs : Tétoum, Helene, Mounia, Feypouz;

A ma belle nièce Nourhane que Dieu la garde et son père Sebti.

Pour leur affection, leur sympathie et leur aide précieuse morale et matérielle;

A mes collègues : yasmîna, souâd;

A mes très chères amies qui m'ont apporté de l'espoir et du courage : yasmîna, Assia, Farida, Nabila, Nassira,

Meriem, Latifa, Samira, Fatima, Chahira et Lamia;

A toute la promotion de contrôle de qualité Ingénierat;

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Amina

Dédicace

Au nom du Dieu je commence :
Je dédis ce travail à la femme et l'homme qui m'ont donné
le droit d'être dans ce monde ; à ceux qui ont consacré leur
vie pour notre bonheur et notre réussite

A ma très chère Horia

A mon très cher père Hocine

A mes soeurs : Messaouda, Fatima, Zahra, Hacina et
Habiba

A mes frères : Ali, Smail, Mohammed, Abdelhamid,
Omar et Abdelhakim

A ma grande famille

A mes collègues : Amina et Yasmina,

A mes amies, surtout Hayat, Manel, Amina, Warda,
Radia, Ratiba, Samia...

A toute la promotion de 2007 contrôle de la qualité et
analyses Ingénierat

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

A tous ceux qui j'ai connu, ceux que je connais, ceux
que je connaîtrai

Souad

Liste des figures

Figure N°1 : Différents termes utilisés dans la composition du lait.	2
Figure N°2 : Diagramme du processus technologique de fabrication du Lben.....	14
Figure N°3 : Evolution de pH du lait cru	37
Figure N°4 : Evolution de pH du Lben.	37
Figure N°5 : Evolution de l'acidité du lait cru	38
Figure N°6 : Evolution de l'acidité du Lben.....	38
Figure N°7 : Evolution de la matière sèche du lait cru.	41
Figure N°8 : Evolution de la matière minérale du lait cru.....	41
Figure N°9 : Evolution de la matière organique du lait cru.....	42
Figure N°10 : Evolution de la matière sèche du Lben.	42
Figure N°11 : Evolution de la matière minérale du Lben.	43
Figure N°12 : Evolution de la matière organique du Lben.	43
Figure N°13 : Evolution du nombre de la flore totale du lait cru.	46
Figure N°14 : Aspect des colonies de coliformes totaux	47
Figure N°15 : Evolution du nombre des coliformes totaux du lait cru.....	48
Figure N°16 : Evolution du nombre des coliformes totaux du Lben.....	49
Figure N°17 : Aspect des colonies de coliformes fécaux.	50
Figure N°18 : Evolution du nombre des coliformes fécaux du lait cru.	51
Figure N°19 : Evolution du nombre des levures et moisissures du lait cru.....	52
Figure N°20 : Aspect des levures.	53
Figure N°21 : Aspect des moisissures.....	53
Figure N°22 : Evolution du nombre des levures et moisissures du Lben.....	53
Figure N°23 : Aspect des colonies de Streptocoques	54
Figure N°24 : Résultats de test de l'hémolyse des Streptocoques.....	54
Figure N°25 : Résultats de la mini-galerie biochimique pour <i>E. coli</i>	55
Figure N°26 : Résultats de l'antibiogramme pour <i>E.coli</i>	56
Figure N°27 : Effets des antibiotiques sur les 10 souches d' <i>E.coli</i> isolées.	57
Figure N°28 : Résultats de l'antibiogramme pour les Streptocoques.....	58
Figure N°29 : Effet des antibiotiques sur les 10 souches de Streptocoques isolées.....	59

Liste des abréviations

pH : Potentiel hydrogène

D° : Degré dornic

°C : Degré celcius

h : Heure

min : Minute

Kg : Kilogramme

g : Gramme

μg : Microgramme

l : Litre

ml : Millilitre

mm : Millimètre

UHT : Ultra haute température

MS : Matière sèche

MM : Matière minérale

MO : Matière organique

SS : Signification statistique

NS : Effet non significatif

S : Effet significatif

G : Germe

Abs : Absence

CT : Coliformes totaux

CTT : Coliformes thermotolérants

CSR : *Clostridium* sulfitoréducteurs

E.coli : *Escherichia coli*

D/C : Double concentré

Art : Article

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

I- Synthèse bibliographique Chapitre I : le lait

I-1. Définition du lait.....	2
I-2. Composition et critères nutritionnels du lait.....	2
I-2-1. Eau.....	2
I-2-2. Matière grasse.....	2
I-2-3. Matière azotée.....	3
I-2-4. Glucides.....	4
I-2-5. Matière minérale et saline.....	5
I-2-6. Vitamines.....	5
I-2-7. Enzymes.....	5
I-3. Facteurs influençant la composition du lait de vache.....	5
I-3-1. Race.....	6
I-3-2. Individu.....	6
I-3-3. Age.....	6
I-3-4. Phase de lactation.....	6
I-3-5. Alimentation.....	6
I-3-6. Travail.....	6
I-4. Critères physicochimiques du lait.....	6
I-4-1. Densité.....	6
I-4-2. Point de congélation.....	7
I-4-3. Point d'ébullition.....	7
I-4-4. Acidité.....	7
I-4-5. pH.....	7
I-5. Microbiologie du lait.....	7
I-5-1. Origine de la flore lactée.....	7
a. Flore originelle.....	7
b. Flore de contamination.....	8
I-5-2. Action de la flore du lait.....	8
a. Aspect sanitaire.....	8
b. Aspect qualitatif.....	8
I-6. Conservation du lait par le traitement thermique.....	9
I-6-1. La conservation par la chaleur.....	10
I-6-2. Conservation par le froid.....	11
I-7. Les goûts anormaux du lait de consommation.....	11
I-7-1. Défauts liés à la présence de laits anormaux.....	11
I-7-2. Défauts liés aux transformations des composants du lait.....	11
I-7-3. Défauts liés à l'acquisition de saveurs anormales.....	11

Chapitre II: Les produits laitiers fermentés

II-1. Définition légale.....	12
II-2. Quelques principaux laits fermentés.....	12

II-2-1. Yagourt	12
II-2-2. Kéfir.....	12
II-2-3. Koumis.....	12
II-2-4. Lben	12
a. Définition.....	12
b. Classification et technique de fabrication du Lben	13
c. Physicochimie du Lben	15
d. Microbiologie du Lben	15
II-3. Intérêt nutritionnel et sanitaire des laits fermentés	15
II-3-1. Effet sur la composition du lait.....	16
II-3-2. Effet sur la digestion du lactose et des protéines	16
II-3-3. Effet sur la flore intestinale.....	16
II-3-4. Sensibilité aux infections et réponse immunitaire	16
II-3-5. Effet sur la cholestérolémie	17
II-4. Le contrôle et l'inspection des produits laitiers.....	17
II-4-1. Intervention sur la production du lait « matière première »	17
II-4-2. Intervention au niveau des établissements de collecte et de transformation du lait.....	17
II-4-3. Intervention sur la distribution et la vente.....	17

Chapitre III: Les maladies transmissibles

III-1. Maladies de la mamelle.....	18
III-1-1. Les mammites.....	18
a. Les mammites subcliniques ou inapparentes	18
b. Les mammites cliniques.....	18
c. Les mammites chroniques	19
III-1-2. Affection du trayon	19
III-2. Zoonoses.....	19
III-2-1. Tuberculose.....	19
III-2-2. Brucellose	19
III-2-3. Listériose	19
III-3. Les antibiotiques	20
III-3-1. Définition.....	20
III-3-2. Classification des antibiotiques.	20
III-3-3. Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	21
a. Mécanismes de résistance	21
b. Les différents types de résistance.....	21

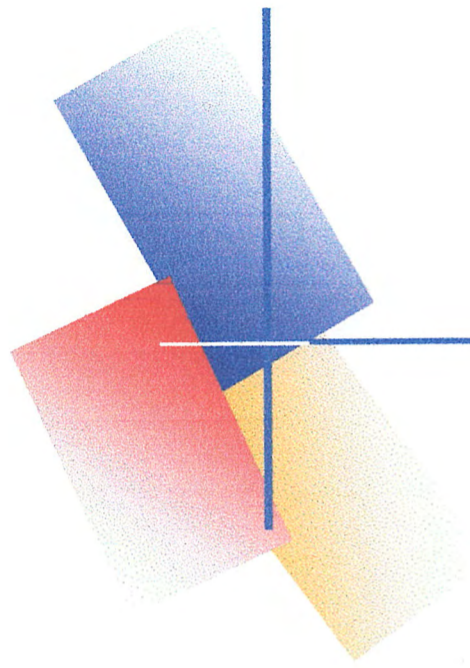
II. Matériel et méthodes

II-1. Matériel.....	22
II-1-1 Echantillons.....	22
II-1-2. Milieux de culture	22
III-1-3. Produits chimiques et réactifs.....	23
III-1-4. Autres matériel.....	23
II-2. Méthodes de travail	23
II-2-1. Echantillonnage.....	23
II-2-2. Préparation des échantillons	24

II-2-3. Analyse physicochimique.....	24
a. Mesure du pH et de l'acidité.....	24
b. Stabilité du lait à l'ébullition.....	24
c. Mesure de l'activité réductase.....	25
d. Détermination de la matière sèche.....	25
e. Détermination de la matière minérale.....	26
f. Détermination de la matière organique.....	26
II-2-4. Analyse microbiologique.....	26
a. Préparation des dilutions.....	26
b. Recherche et dénombrement des flores.....	26
b-1. Dénombrement de la flore totale mésophile.....	26
b-2. Dénombrement des coliformes totaux.....	27
b-3. Dénombrement des coliformes thermotolérants.....	27
b-4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	28
b-5. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs.....	28
b-6. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
b-7. Recherche de <i>Salmonella</i>	30
b-8. Recherche des Streptocoques fécaux.....	31
c. Identification des germes.....	31
c-1. Les microcoques.....	31
c-2. Les Entérobactéries.....	33
II-2-5. Test de la sensibilité aux antibiotiques.....	34

III. Résultats et discussion

III-1. Résultats de l'analyse physicochimique.....	36
III-1-1. Résultats de la mesure du pH.....	36
III-1-2. Résultats de la mesure de l'acidité.....	37
III-1-3. Résultats du test de la stabilité du lait à l'ébullition et de l'activité réductase.....	38
III-1-4. Résultats de la détermination de la matière sèche, minérale et organique.....	39
III-2. Résultats de l'analyse microbiologique.....	44
III-2-1. Résultat de la recherche et dénombrement des flores.....	44
a. Résultats de dénombrement de la flore totale mésophile.....	46
b. Résultats de dénombrement des coliformes totaux.....	47
c. Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants.....	49
d. Résultats de la recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	51
e. Résultats de recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs, <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et Streptocoques fécaux.....	54
III-2-2. Résultats d'identification des souches.....	54
III-3. Résultats du test de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	56
III-3-1. Résultats de la sensibilité d' <i>Escherichia coli</i>	56
III-3-2. Résultats de la sensibilité de Streptocoques.....	57
Conclusion	60
Annexes	
Références bibliographiques	



Introduction

Introduction

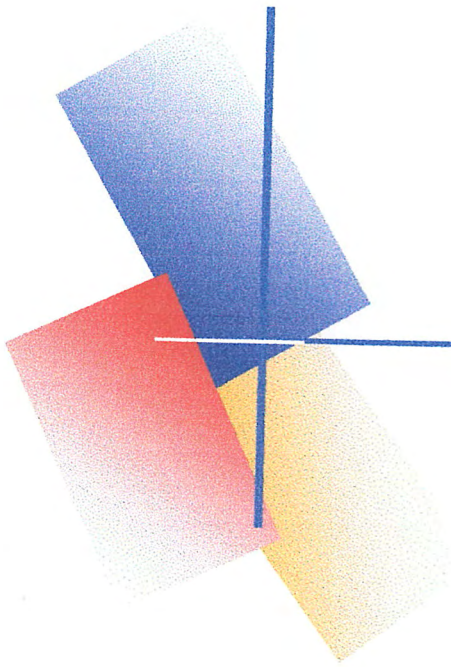
En Algérie, le lait et le Lben sont comptés parmi les produits les plus appréciables. Leur consommation est très importante, on peut même dire sans exagération que le Lben constitue la base de l'alimentation durant les périodes estivales, de plus il est considéré comme une boisson qui a un grand intérêt nutritionnel et un aliment traditionnel par excellence.

Cependant, par sa composition riche en nutriments, le lait constitue un excellent milieu de culture pour les micro-organismes. Certains d'entre eux sont pathogènes pour l'homme et peuvent être l'agent de transmission de maladies contagieuses.

Malgré l'effet observable de la fermentation sur la conservation et l'amélioration de la qualité du lait, une contamination aux niveaux des différents stades de préparation ou lors de sa récolte ou même de sa commercialisation peut avoir des conséquences graves sur la santé du consommateur.

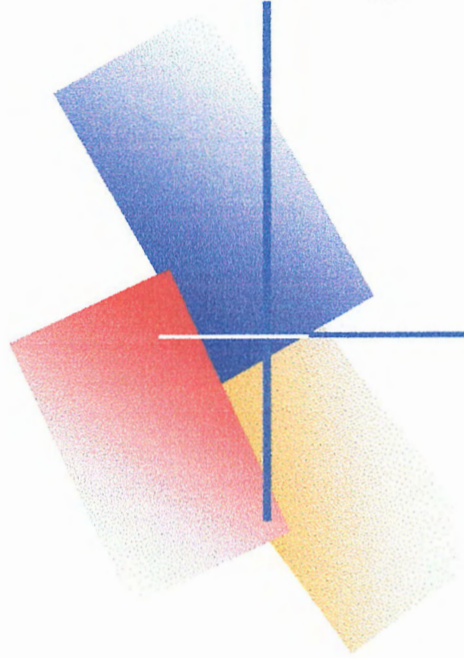
C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail afin d'évaluer la qualité de certains produits laitiers commercialisés dans la wilaya de Jijel, il se divise en deux parties : une partie bibliographique qui permet de saisir les différentes informations concernant le lait et le Lben et une partie expérimentale qui bute sur la détermination de la qualité microbiologique, physico-chimique et la recherche de certains germes pathogènes avec estimation de leur sensibilité aux antibiotiques.

A la lumière des résultats attendues, une réflexion même préliminaire pourrait être dégagée sur l'état de salubrité et les conséquences de l'éventuelle présence des germes pathogènes multi-résistants dans les différents produits laitiers analysés.



I. Synthèse
Bibliographique

Chapitre I



Le lait



I-1. Définition du lait.

La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Il a été défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant : «le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (LUQUET, 1990).

Il peut être cru, au transformé, mais il reste un produit périssable qui doit être manipulé dans des conditions rigoureuses d'hygiène.

I-2. Composition et critères nutritionnels du lait.

D'après DEBRY (2001), le lait est un milieu hétérogène dans le quel trois phases distinctes coexistent :

- la phase aqueuse : représente environ 87% du lait, elle contient l'eau et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum tel que le lactose, sels, protéines, composés azotés non protéiques, vitamines, enzymes, etc.
- la suspension colloïdale micellaire : elle occupe 2.6% et donne naissance au caillé obtenu par coagulation.
- L'émulsion qui représente 4.2% et qui peut donner naissance à la crème.

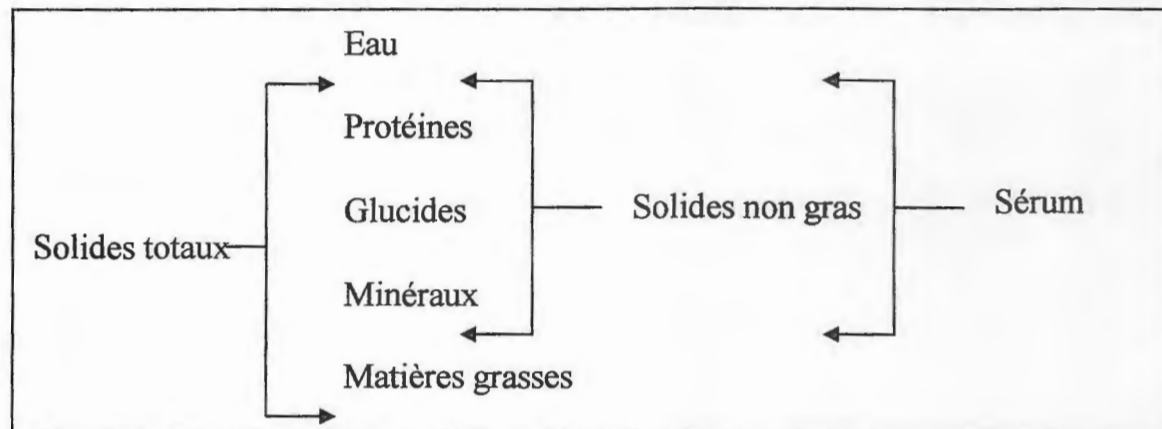


Figure N°1 : Différents termes utilisés dans la composition du lait (VIGNOLA, 2002).

I-2-1. Eau.

L'eau représente l'élément le plus important, il occupe environ 87% du lait, il joue le rôle de dispersant des différents constituants (DEBRY, 2001).

I-2-2. Matière grasse.

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, de phospholipides, de cholestérol et de β -carotène (VINGOLA, 2002), elle se trouve sous forme de globules gras d'un diamètre de 0,1 à 20 μm selon l'espèce et la race (JACKUET et VEISSEYRE, 1987).

Tableau N° 1 : Constituants lipidiques du lait et leur localisation (FAO, 1998).

Constituants lipidiques	Proportion (g/100 g de MG)	Localisation
Triglycérides	96 – 98	Globules gras (GG)
Diglycérides	0,3 – 1,6	Globules gras
Monoglycérides	0,0 – 0,1	Globules gras
Phospholipides	0,2 – 1,0	Membrane du GG et lactosérum
Cérébrosides	0,0 – 0,08	Membrane du GG
Stéroïdes	0,2 – 0,4	Globules gras
Acides gras libres	0,1 – 0,4	Membrane du GG et lactosérum
Esters du cholestérol	Traces	Membrane du GG
Vitamines	0,1 – 0,2	Globules gras

I-2-3. Matière azotée.

Les matières azotées constituent un ensemble complexe dont la teneur totale avoisine 33 à 36 g/L, elles sont composées principalement de caséines représentant 26 à 29 g/L présentés dans la phase colloïdale et des protéines du lactosérum comprenant : les albumines, les globulines, les protéoses - peptones, enzymes, etc. (JACKUET et VEISSEYRE, 1987).

Selon VIGNOLA (2002), les composés azotés non protéiques représentent 5% de l'azote total du lait et se présentent sous forme de protéases, des peptones et de l'urée (Tableau N°2).

Tableau N°2 : Composition protéique du lait (JACKUET et VEISSEYRE, 1987).

Composés	Pourcentage (%)
Caséines :	
Caséines α_{s1}	39 – 46
Caséines α_{s2}	8 – 11
Caséines β	25 – 35
Caséines K	8 – 15
Caséines K	3 – 7
Protéines sériques :	
β - lactoglobuline	7 - 12
α - lactalbumine	2 – 5
Sérum- albumine	0,7 – 1,3
Immunoglobulines (G1, G2, A, M...)	1,9 – 3,3
Protéoses peptones	2 – 4

I-2-4. Glucides.

Le lactose est le glucide le plus important du lait, sa teneur moyenne est de 50g par litre de lait. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose, en outre certains glucides peuvent se combiner aux protéines (VEISSEYRE, 1979) (Tableau N°3).

Tableau N°3 : Composition glucidique du lait (DEBRY, 2001).

Glucides	Teneur (g/L)
Lactose	50
Polyoside libre	1
Glucides combinés	0,26

I-2-5. Matière minérale et saline.

Le lait contient tous les éléments minéraux indispensables à l'organisme et notamment le calcium et le phosphore. Ces éléments représentent environ 9g/L, ils sont répartis sous la forme de sels solubles, la grande partie se trouve dans la phase colloïdale insolubles représenté par les micelles de caséines (DEBRY, 2001).

Certains éléments comme le soufre et les oligo-éléments sont présentés à des faibles concentrations (Tableau N°4).

Tableau N°4 : Constituants salins majeurs et principaux oligo-éléments du lait (VEISSEYRE, 1979).

Minéraux	Teneur moyennes (g/L)
Potassium	1,5
Calcium	1,25
Sodium	0,5
Magnésium	0,13
Chlore	1,0
Phosphore total	0,95
Acide citrique	1,75
Oligo-éléments	Variations usuelles (µg/L)
Aluminium	500 – 600
Brome	300 – 2000
Cuivre	20 – 50
Fer	100 – 300
Fluor	100 – 200
Iode	20 – 100
Manganèse	20 – 30
Molybdène	30 – 60
Silicium	1500 – 10000
Strontium	70 – 400
Zinc	3000 – 4000

I-2-6. Vitamines.

Le lait renferme la quasi-totalité des vitamines. Les éléments liposolubles (A, D, E, k) sont localisés dans la phase grasse, par contre les hydrosolubles sont fixés sur la micelle de caséine ou dispersés dans la phase aqueuse (JACKUET ET VEISSEYRE, 1987) (Tableau N°5).

Tableau N°5 : Teneur moyenne des principales vitamines pour 100ml du lait (VIGNOLA, 2002).

Vitamines	Teneur moyenne (µg/100ml)
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+ carotènes)	40
Vitamine D	2,4
Vitamine E	100
Vitamine K	5
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (Ac ascorbique)	2
Vitamine B1 (Thiamine)	45
Vitamine B2 (riboflavine)	175
Vitamine B6 (pyridoxine)	50
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,45
Niacine et niacinamide	90
Acide pantothénique	350
Acide folique	5,5
Vitamine H (biotine)	

I-2-7. Enzymes.

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases et les oxygénases comme il indique le tableau N°6 (VIGNOLA, 2002).

Tableau N°6 : Les principaux enzymes du lait (VIGNOLA, 2002).

Hydrolases	Déshydrogénases (oxydases)	Oxygénases
Estérases : Lipases Phosphatase alcaline Phosphatase acide	Sulphydryle – oxydase Xanthine oxydase	Lactoperoxydase catalase
Protéases : Lysozyme ,plasmine		

I-3. Facteurs influençant la composition du lait de vache.

La quantité et la composition du lait produite par la vache est également sous la dépendance de plusieurs facteurs (VEISSEYRE, 1979)

I-3-1. Race.

Ce facteur prédomine à tous les points de vue. Les variations de l'extrait sec total peuvent être considérables, la matière grasse étant l'élément le plus instable et le lactose l'élément le plus stable (VEISSEYRE, 1979).

I-3-2. Individu.

Toutes les vaches d'une race donnée n'ont pas le même rendement et ne secrètent pas des lait de même composition. La génétique a une forte influence sur le rendement laitier et plus encore sur les taux, notamment de matière grasse c'est-à-dire le taux butyreux et de protéine qui influence sur le rendement fromager (WOLTER, 1997).

I-3-3. Age.

La quantité de lait augmente généralement du 1^{er} veau au 5^{ème} ou 6^{ème}, puis diminue sensiblement. Les modifications de composition ne sont pas nette (VEISSEYRE, 1979).

I-3-4. Phase de lactation.

En raison de l'importance de certaines variations saisonnières, le lait n'a pas la même composition ce qui influe fortement sur le rendement protéique et fromager (FAO, 1998).

I-3-5. Alimentation.

L'influence du régime alimentaire est très observée quant aux taux de lactose, de matière grasse et de minéraux majeurs, comme de vitamines hydrosolubles (WOLTER, 1997).

La teneur en glucides de la ration influe significativement sur le taux butyreux, une alimentation pauvre en foin l'abaisse sensiblement.

Ainsi, les fourrages verts, les tourteaux de lin et de colza augmentent la teneur de la graisse en acides non saturés et diminuant la proportion des glycérides trisaturés donc le point de fusion du beurre qui devient plus mou (VEISSEYRE, 1979).

I-3-6. Travail.

Il ne faut pas faire travailler les vaches laitières, la production diminue rapidement car les éléments de la ration sont partiellement brûlés pour permettre le travail musculaire où sont perdus par la transpiration (VEISSEYRE, 1979).

I-4. Critères physicochimiques du lait.

Les principales propriétés physicochimiques du lait sont : la densité, le point de congélation, le point d'ébullition, l'acidité et le pH.

I-4-1. Densité.

La densité du lait à 20°C varie de 1,028 à 1,034 pour une moyenne de 1,032. Elle est influencée par le taux de matière grasse et la teneur en solides non gras (VIERLING, 1999).

I-4-2. Point de congélation.

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau. Il peut varier de (-0,530 °C) à (-0,575 °C). Un point de congélation supérieur à (-0,530°C) permet de soupçonner un mouillage du lait (VIGNOLA, 2002).

I-4-3. Point d'ébullition.

Le point d'ébullition et sous l'influence des solides solubilisés, est légèrement supérieur au point d'ébullition d'eau, soit 100,5°C (VIGNOLA, 2002).

I-4-4. Acidité.

L'acidité est une notion très importante pour l'industrie laitière, car elle permet de vérifier la qualité du lait. Elle varie entre 16 à 18 °D (VEISSEYRE, 1979).

I-4-5. pH.

La mesure du pH renseigne sur l'état de la fraîcheur du lait. Le pH d'un lait frais se situe entre 6,6 et 6,8. S'il est inférieur à 6,5, le lait est acide (VIGNOLA, 2002).

I-5. Microbiologie du lait.**I-5-1. Origine de la flore lactée.**

Le lait est un substrat très riche en nutriment ce qui lui rend un substrat idéal pour le développement d'un très grand nombre de microorganismes (LARPENT, 1997).

a. Flore originelle.

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000 germes/ml. La flore indigène du lait se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés à la sortie du pis (VINGOLA, 2002). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (LARPENT, 1997). (Tableau N°7).

Tableau N°7 : Flore indigène du lait cru (VIGNOLA, 2002).

Micro-organismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp</i>	30 – 90
<i>Lactobacillus</i>	10 – 30
<i>Streptococcus</i> ou <i>lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire tel que :

- *Streptocoques pyogènes, Corynébactéries pyogènes, Staphylococcus*,... agent de mammites.
- *Salmonella ; Brucella*, agent de la fièvre de malte.
- *Listeria monocytogènes* ; agent de la listériose.
- *Mycobactérium* ; agent de la tuberculose.
- *Bacillus anthracis* ; agent du charbon.
- *Coxiella burnetti* ; agent de la fièvre Q (GUIRAUD, 2003).

b. Flore de contamination.

La flore contaminante est l'ensemble des micro-organismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut être une flore d'altération ou pathogène capable de provoquer divers maladies (VINGOLA, 2002).

L'origine de cette contamination est diverse (LARPENT, 1997).

- Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella*, *Shigella*, etc.
- Sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc.
- Litières et aliments : flore banale, lactobacilles, *Clostridia* butyriques.
- Air et eau : *Pseudomonas*, bactéries sporulées, etc.
- Equipement de traite et de stockage du lait : flore lactique, microcoques, lactobacilles, levures, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, etc.
- Manipulateurs : Staphylocoques des mains, germes de contamination fécale.
- Vecteurs divers : insectes en particulier, flore de contamination fécale.

I-5-2. Action de la flore du lait.**a. Aspect sanitaire.**

Des germes pathogènes peuvent être présents dans le lait. Certains sont capables de se multiplier, d'autres sont simplement transmis, dans ce dernier cas on ne les retrouvera qu'en faible quantité (GUIRAUD et GALZY, 1980).

La plupart des maladies graves ne sont toutefois transmises qu'exceptionnellement par le lait. La tuberculose due au *Mycobacterium* du lait est rare, les brucelloses sont plus fréquentes (*Brucella melitensis*). Des fièvres typhoïdes peuvent être causées par les *Salmonelles*, des toxi-infections ou intoxications par les Staphylocoques. Les cas de dysenterie par *Shigella*, d'intoxication par les *Escherichia coli* entéro-pathogènes et d'angines ou scarlatine par des *Streptococcus pyogènes* sont rares. La transmission du charbon, de la fièvre Q, de maladie virale et exceptionnelle (GUIRAUD et GALZY, 1980).

Des mycotoxines peuvent être aussi présentes dans les produits laitiers, soit qu'elles proviennent d'animaux ayant consommés des aliments contaminés (aflatoxine M excrétée par *Aspergillus flavus*), soit qu'elles proviennent du développement direct de moisissures (*Penicillium cyclopium*, *P. véridicatum* ou *P. stoloniferum*) dans les poudres de lait (GUIRAUD et GALZY, 1980).

b. Aspect qualitatif.

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait entraînant par leurs actions des modifications de texture et du goût. Ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait (aération, température) et des traitements qu'il subit (GUIRAUD et GALZY, 1980).

b-1. Surissement et acidification par coagulation.

La plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine, cette coagulation se produit à partir du pH 4,6, elle est facilitée par le chauffage du lait acidifié.

De 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au dessus de 37°C, les germes en causes sont *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus faecalis* ou *Lactobacillus bulgaricus*. L'acidification du lait pasteurisé est produite par des germes thermophiles ayant résisté ou des sporulés (*Clostridium*, *Bacillus*) (GUIRAUD et GALZY, 1980).

b-2. Protéolyse.

Elle est favorisée par un long stockage à basse température. La protéolyse peut se manifester directement par l'odeur et par une légère alcalinisation du lait.

Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*. Elle peut également se développer sur le caillé issue d'une acidification : elle provoque alors la digestion de ce caillé. (GUIRAUD et GALZY, 1980).

b-3. Filage.

Il peut être dû à des agents non bactériens (excès de crème, coagulation de lactalbumine par chauffage), à une action microbienne indirecte (passage de leucocytes et de fibrine dans le lait consécutivement à une mammite) ou à une action microbienne directe. Il est causé alors par les capsules mucilagineuses de bactéries telles que *Alcaligenes viscosus*, *Micrococcus*, *Aérobacter*, *Leuconostoc* qui se développe à faible température. (GUIRAUD et GALZY, 1980).

b-4. Autres dégradations.

Les Pseudomonaceae et les sporulés (*Bacillus cereus*) peuvent dénaturer la matière grasse par oxydation des acides gras insaturés, hydrolyse, ou les deux. D'autres germes, *Pseudomonas fluorescence*, *Alcaligenes faecalis* peuvent provoquer une alcalinisation importante par formation d'urée d'ammoniaque et de carbonate.

Streptococcus lactis var *maltigenes* peut donner au lait un goût de caramel.

Enfin des micro-organismes pigmentés peuvent entraîner des colorations parasites : bleu (*Pseudomonas syncyanea*), jaune (*Flavobactérium*), rouge (*Brevibactérium erythrogrenes*). (GUIRAUD et GALZY, 1980).

En effet et quand le lait est un excellent milieu de culture pour la plupart des germes et puisque il représente un grand risque s'il n'est pas traité, de nombreuses méthodes de traitement et de conservation sont applicables.

I-6. Conservation du lait par traitement thermique.

L'action de la chaleur se distingue nettement de l'action du froid par le fait qu'elle permet de tuer les microbes et non d'entraver simplement leur développement. Le traitement du lait par la chaleur n'est donc pas seulement une méthode de conservation ; c'est également et surtout un procédé d'assainissement. Alors que le refroidissement ne

Chapitre II

Les produits laitiers

fermentés



Introduction.

La fermentation du lait conduisant à la formation d'acides organiques, notamment d'acide lactique, entraînent une acidification du lait. Ces laits fermentés peuvent résulter d'ensemencements spontanés à température ambiante, ou d'ensemencement par une flore et à une température contrôlée. Ce contrôle porte sur le choix des espèces et des souches en fonction de leur intérêt technologique texturaux ou organoleptique (FAO, 2003).

II-1. Définition légale.

La dénomination « lait fermenté » est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non, enrichis ou non de constituants du lait, ayant subi un traitement thermique du moins équivalent à la pasteurisation, ensemencés avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristique de chaque produit (VIERLING, 1999).

II-2. Quelques principaux laits fermentés.

Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, flore microbienne, technologie, texture, goût et leur durée de conservation (FAO, 2003).

II-2-1. Yagourt.

La dénomination « yaourt » au « yogourt » est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent être ensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini, à raison d'un 10^7 bactéries par gramme avec une quantité d'acide lactique de 0,7% à la vente du yaourt (SIMON *et al.*, 2002).

II-2-2. Kéfir.

Le kéfir est un produit fermenté alcoolisé, originaire du Caucase, résulte de fermentations bactériennes et fongiques, en particulier du fait de l'activité de *Saccharomyces kéfir* qui produit une fermentation alcoolique. La préparation est mousseuse à cause de la présence du dioxyde de carbone. Il contient moins de 1% d'éthanal et 1% d'acide lactique (VIERLING, 1999).

II-2-3. Koumis.

Ce produit originaire des steppes de l'Asie central est fabriqué avec du lait de jument, d'ânesse, de chamelle mélangé ou non avec du lait de vache. Comme pour le kéfir, la fermentation résulte d'une flore mixte des bactéries lactiques et de levures (FAO, 2003).

II-2-4. Lben.

C'est un lait acidifié largement consommé dans les pays chauds et en particulier en Afrique du nord et au Moyen-Orient (FAO, 2003).

a. Définition.

Le Lben est une boisson lactée préparée par la fermentation spontanée et la coagulation du lait cru entier, suivi de barattage, d'addition d'eau et d'élimination du beurré (TANTAOUI *et al.*, 1987).

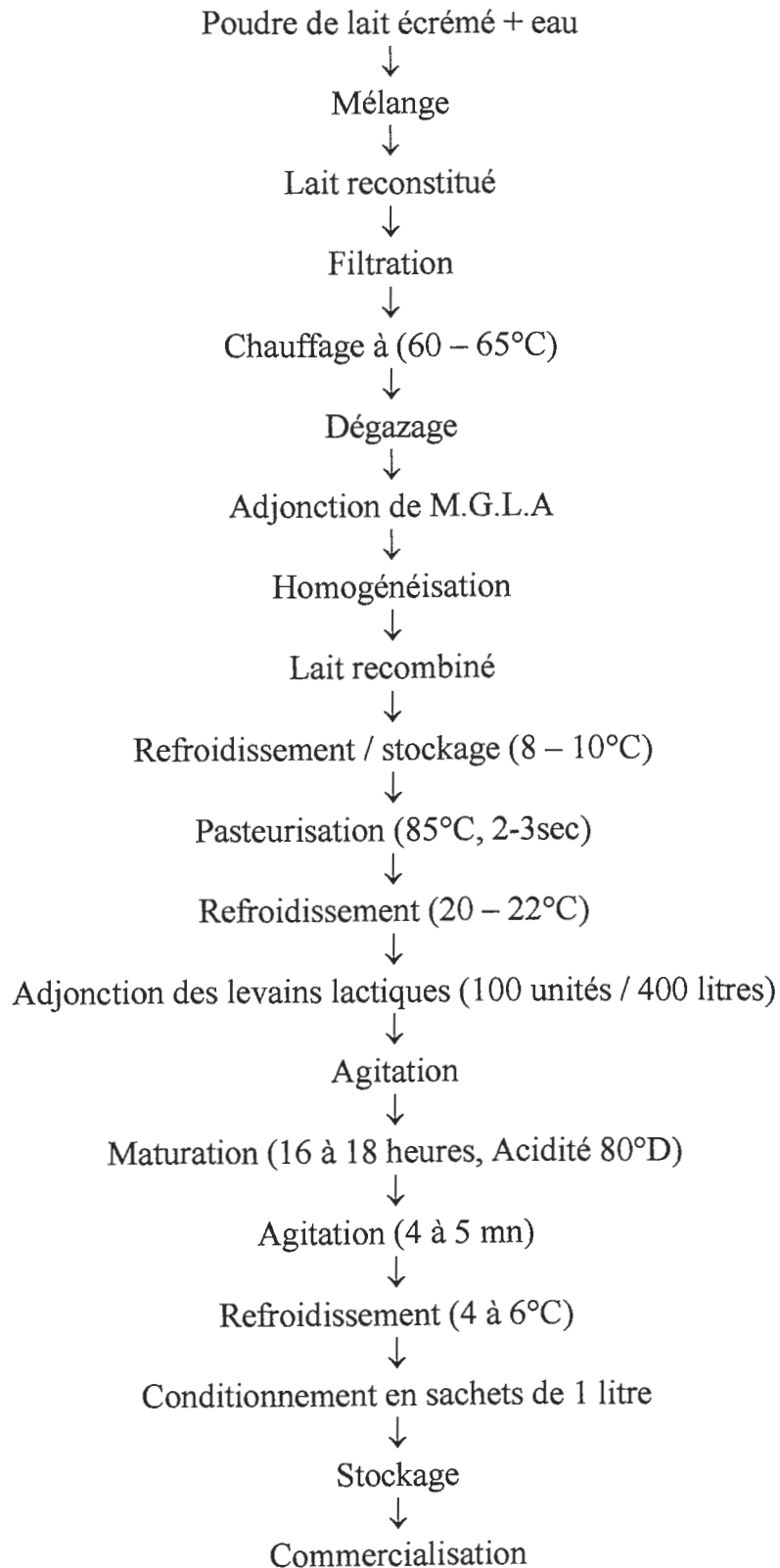


Figure N°2 : Diagramme du processus technologique de fabrication du Lben (Laiterie NUMIDIA Constantine).

c. Physicochimie du Lben.

HARRATI (1974) a montré que le Lben présente une couleur blanche très nette, des grains de matière grasse de 2 à 8 mm de diamètre. De même elle a observé la sédimentation constante et assez rapide de la caséine et une exsudation du sérum probablement due à l'addition d'une quantité importante d'eau. Une étude sur le Lben marocain permet d'estimer la composition chimique du Lben ; les valeurs moyennes pour les principaux constituants sont résumées dans le tableau ci-dessous (TANTAOUI, et al., 1987).

Tableau N°8 : Paramètres physicochimiques du Lben (TANTAOUI, et al., 1987).

Constituants	Valeurs
pH	4,2
Acidité (°D)	82
Graisses	8,9 g/L
Protéines totales	25,6 g/L
Lactose	26,9 g/l
Matière sèche totale	89 g/L

Une autre étude similaire consacrée au Lben artisanal algérien faite par HARRATI (1974) révèle que le pH moyen est de 4,2 et que l'acidité est de 73,5, la teneur en MS totale de 68 g/L.

d. Microbiologie du Lben.

Les connaissances microbiologiques sur le Lben artisanal et familial sont encore fragmentaires et les auteurs qui ont essayé d'isoler les micro-organismes donnent des résultats différents.

En Algérie HARRATI (1974) a montré que 90% des micro-organismes totaux du Lben sont des Streptocoques lactiques. Elle a cité *Streptococcus lactis*, *Streptococcus crémoris*, *Leuconostoc dextranicum*, *leuconostoc mesenteroïdes*, *Leuconostoc citrovorum*. Elle a noté l'absence des lactobacilles, ce qu'elle l'a justifié par le fait qu'une fermentation très lente a lieu et que ces lactobacilles restent limités à leur phase initiale.

Par contre une étude sur le Lben tunisien rédigée par BENAMOR et al. (1989) a montré que la majorité de la flore de Lben est constituée par une flore lactique mésophile représentée par les *Lactococcus lactis ssp lactis*, *L. lactis ssp cremoris* et *Lactobacillus plantarum* associé à une flore de contamination du genre Entérocoque.

II-3. Intérêt nutritionnel et sanitaire des laits fermentés.

Les bénéfices des laits fermentés sont nombreux. Non seulement ils assurent la conservation du lait en inhibant le développement des pathogènes, mais aussi ils offrent également d'indéniables avantages en terme de santé : biodisponibilité du lactose et des protéines, enrichissement en vitamines. Le tout pour un coût économique faible ce qui explique sans doute le large développement des laits fermentés dans le monde (SEYFFARTH et al., 2005).

II-3-1. Effet sur la composition du lait.

L'effet majeur de la fermentation lactique sera l'hydrolyse du lactose, les autres sources énergétiques : les lipides et les protéines sont peu modifiées. Il existe une protéolyse modérée et les acides aminés sont libérés. Cette libération est sans doute importante pour assurer la croissance symbiotique des ferments (FAO, 2003).

La fermentation lactique mène à un enrichissement en certains vitamines du groupe B, ces dernières étant synthétisés par les microorganismes, certaines d'entre eux en consommant plus qu'elles n'en produisent, d'autres en produisent plus qu'elles n'en consomment (SEYFFARTH et *al.*, 2005). Les travaux publiés à ce jour sont souvent contradictoires. Il ressort, cependant, une augmentation de la teneur en acide folique du yaourt (FAO, 2003).

II-3-2. Effet sur la digestion du lactose et des protéines.

Beaucoup de personnes souffrent de divers troubles digestifs liés à l'intolérance au lactose due à la faible production du lactase. Le remplacement du lait par le yaourt ou par des autres produits laitiers fermentés dont le lactose est transformé en acide lactique est alors conseillé (TREMOLIERES et *al.*, 1984).

L'acidification du lait fermenté préparé en quelques sorte la protéolyse acide qui se produit dans l'estomac : elle facilite l'action de la pepsine. Elle interviendrait également dans le processus de coagulation intra-gastrique de la caséine, qui rassemble la caséine en fines particules, alors que la caséine du lait non fermenté forme, dans les même conditions, de grosses particules moins rapidement attaquées par les enzymes protéolytiques (SEYFFARTH et *al.*, 2005).

II-3-3. Effet sur la flore intestinale.

Un certain nombre de travaux chez l'animal montrant que l'ingestion des laits fermentés est susceptible de modifier la flore intestinale de l'hôte, en particulier de diminuer la quantité de germes indésirables tel que la réduction du nombre d'*E. coli* intestinale par *les Lactobacillus acidophilus*. Cette propriété semble avoir été utilisée avec succès dans le cas d'enfant souffrant de diarrhées à *E. coli* (FAO, 2003).

Allez plus loin, des études sur les activités métaboliques de la flore chez l'animal, ont montré que l'ingestion de différent lait fermentés fait abaisser l'activité des enzymes responsables à la formation des substances cancérogènes, mais ils faut noter qu'il n'a pas été démontré chez l'homme de relation entre l'activité de ces enzymes et la survenue de cancers du colon (FAO, 2003).

II-3-4. Sensibilité aux infections et réponse immunitaire.

L'ingestion de laits fermentés semble entraîner une augmentation de certaines immunoglobulines après ingestion des *Lactobacillus acidophilus* on encore de *L. casei* du yaourt, ainsi qu'un rôle dans la migration des macrophages périphériques vers le foie. D'autres recherches concernent un possible stimulation de la production de cytochromes, protéines importantes dans la régulation du système immunitaire ainsi que pour leur action antibactérienne et antivirale (FAO, 2003).

II-3-5. Effet sur la cholestérolémie.

Certaines recherches suggèrent que le yaourt serait encore plus efficace que le lait pour maintenir une cholestérolémie basse. Il n'est toute fois pas possible d'affirmer un effet propre des laits fermentés sur la cholestérolémie (FAO, 2003).

II-4. Le contrôle et l'inspection des produits laitiers.

L'inspection s'inscrit très logiquement dans une chaîne de production qui conduit de l'alimentation de l'animal à celle de l'homme à travers la vache laitière et l'industrie de transformation et c'est à tous les stades qu'ils peuvent effectivement faire entendre et appliquer les règles d'hygiène indispensables à l'obtention d'un produit sain et de qualité. (MULTON, 1991).

II-4-1. Intervention sur la production du lait « matière première ».

L'objectif est d'assurer l'obtention d'un lait dont la qualité est définie par des critères de composition : matière grasse, matière protéique et bactériologique exprimés par le dénombrement bactérien (MULTON, 1991).

Ainsi, l'inspection s'intéresse particulièrement par la prévention et la lutte contre les zoonoses transmissibles à l'homme et également à la limitation des résidus d'antibiotiques au de pesticides dans le lait (MULTON, 1991).

II-4-2. Intervention au niveau des établissements de collecte et de transformation du lait.

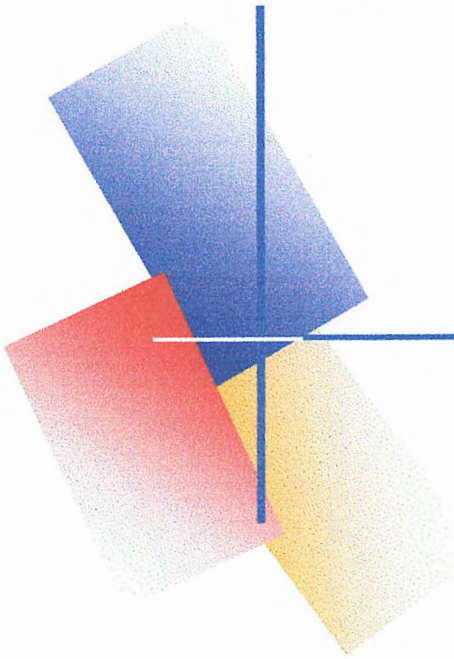
Le contrôle en phase industrielle et avant la phase commerciale s'explique par le souci d'agir en amont du produit fini, afin de prévenir plus efficacement tout incident d'ordre sanitaire. Il est donc logique de s'intéresser aux conditions d'agencement et d'équipement de locaux et des matériels et d'assurer les bonnes règles concernant l'hygiène des personnels (GUIRAUD, 2003).

II-4-3. Intervention sur la distribution et la vente.

Au niveau de ce stade, l'inspection répond alors à un objectif un peut différent puisqu'il ne s'agit plus d'atteindre un niveau de qualité suffisant mais de le maintenir et d'assurer la conservation convenable des produits fabriqués, c'est à ce titre qu'il est indispensable de vérifier la conformité des véhicules de transport, des entrepôts de stockage ou de distribution, des points de vente en gros et en détail, c'est surtout la température qu'il importe de surveiller pour la plupart des produits laitiers à l'état réfrigéré (MULTON, 1991).

Chapitre III

*Les maladies
transmissibles*



III-1. Maladies de la mamelle.

La mamelle peut être la voie naturelle d'élimination de micro-organismes pathogènes au cours d'infections généralisées, qu'il y ait ou non atteinte de l'organe lui-même.

La mamelle et son système lymphatique peuvent être le siège d'infection localisée appelée mammite (JACQUET et VEISSEYRE., 1987).

III-1-1. Les mammites.

La mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers dus à la présence et à la multiplication dans le paranchyme d'une ou plusieurs espèces bactériennes (HESKIA, 1979).

L'apparition des mammites est souvent à l'origine de modifications plus ou moins importantes microbiologiques et physicochimiques du lait. Cette modification peut interférer avec la qualité du lait produit et peut même entraîner des pertes économiques considérables en raison de la diminution de la quantité du lait produit.

Il existe plusieurs types de mammites : mammites subcliniques, mammites cliniques et mammites chroniques (JACQUET et VEISSEYRE, 1979).

a. Les mammites subcliniques ou inapparentes.

Les mammites subcliniques sont des infections dont les symptômes restent généralement inapparents. Leur diagnostic repose sur des analyses parachimiques peuvent être effectuées soit au laboratoire soit au niveau de l'étable.

Ce type d'infection peut être causé par certains Entérobactéries, des Staphylocoques et des Streptocoques (BRUGERE, 2004).

b. Les mammites cliniques.

Ce type de mammite est caractérisé par l'apparition de signes locaux : inflammation de la mamelle et /ou modification de l'aspect du lait, abcès, gangrène, etc.

Ces infections peuvent être liées à plusieurs micro-organismes dont leurs caractéristiques pathogéniques sont très hétérogènes (FAROULT et *al.*, 2000).

b-1. Les mammites aiguës.

Elles surviennent subtilement avec des symptômes généraux marqués, des symptômes locaux importants ; une inflammation et une modification de sécrétion lactée sous forme de sérosité jaunâtre d'aspect aqueux avec présence de grumeaux (FAROULT et *al.*, 2000).

Les causes majeures de ce type de mammite seraient liées à la présence et la multiplication des Staphylocoques, Streptocoques et certaines Entérobactéries.

b-2. Les mammites suraiguës.

Elles sont caractérisées par une inflammation violente due à des germes toxigènes, parmi les espèces les plus pathogènes on peut citer les souches de Staphylocoque dorée

produisant l'hémolysine α , *Escherichia.coli* et d'une manière plus générale les Entérobactéries (FAROULT et *al.*, 2000).

c. Les mammites chroniques.

Ce type de mammite est caractérisé par une forte morbidité et une faible mortalité. La mamelle apparaît remplie mais elle reste ferme avec une faible production lactée (BRUGERE, 2000). De nombreuses bactéries peuvent être rencontrées : mycoplasme, Clostridies et *Corenybactérium*.

III-1-2. Affection du trayon.

Les affections du trayon peuvent reconnaître les mêmes causes que les atteintes cutanées que celle-ci soit d'origine virale, bactérienne, parasitaire ou autres (BRUGERE, 2004).

III-2. Zoonoses.

Le lait peut servir de vecteur à des micro-organismes pathogènes, pouvant porter atteinte à la santé humaine, lors de la consommation de celui-ci en l'état ou en raison de leur persistance dans des produits ayant subi de traitements technologiques inadaptés ou mal maîtrisés (JACQUET et VEISSEYRE, 1987).

III-2-1. Tuberculose.

La tuberculose d'origine alimentaire pourrait être relativement rare ; elle se rencontre surtout chez les jeunes enfants consommant du lait cru contaminé par des bacilles tuberculeux du type bovin et qui sont soit éliminés par la mamelle de la vache, soit véhiculés par des poussières d'étables et introduits dans le lait, après la traite (TREMOLIERES et *al.*, 1984).

Le lait peut être contaminé autre que les bacilles tuberculeux par *Mycobactérium tuberculosis* et *Mycobactérium bovis* responsable de la tuberculose, maladie grave atteignant le système lymphatique, pulmonaire et / ou osseux (GUIRAUD , 1988).

III-2-2. Brucellose.

Les agents de la brucellose sont *Brucella abortus*, *B. melitensis* et *B. abortus suis*. Ces bactéries sont pathogènes pour l'homme et les mammifères domestiques ; les vaches, chèvres, et brebis atteintes de brucellose éliminent des brucelles par la mamelle et constituent le réservoir de virus pour l'homme ; la consommation de lait cru, de beurre et de fromages peut être un des modes de contamination de l'homme, d'autres voies de contamination sont aussi possible comme le contact avec les animaux infectés, ou lors des manipulations de leurs produits pathologiques (TREMOLIERES et *al.*, 1984).

III-2-3. Listériose.

La listériose est une maladie sporadique commune à l'homme et des nombreuses espèces animales, rencontrée principalement dans les zones tempérées. Elle est due à *Listeria monocytogenes* ou parfois *L. ivanovii*, la contamination peut être tellurique.

Les terrains « listériogènes » seront constamment enrichis par les fèces provenant des animaux malades ou des porteurs asymptomatiques (BRUGERE, 2004).

Les produits laitiers : lait, fromages, et en particulier les fromages à pâte molle peu acide peuvent être des vecteurs de la maladie.

La listériose humaine est principalement rencontrée chez les sujets immunodéprimés par l'âge, les cancers, le diabète, l'éthylisme (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

III-3. Les antibiotiques.

III-3-1. Définition.

Un antibiotique est une substance naturelle, semi synthétique ou synthétique douée d'une activité antimicrobienne à l'échelle moléculaire. Elle s'exerce au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques des bactéries ou en interférant lors d'un équilibre physico-chimique (KEZZAL, 1993).

III-3-2. Classification des antibiotiques.

Il existe de nombreuses classifications en ce qui concerne les antibiotiques. Elles sont fondées sur la formule chimique, le site d'action, la répartition dans l'organisme.

L'usage dans le milieu médical a fait ressortir huit familles d'antibiotiques basées sur des analogies structurelles (EBERLIN, 1994).

Tableau N°9 : Classification des antibiotiques (EBERLIN, 1994).

Famille	Spectre antibactérien	Mode d'action
B. Lactamine	Certain bacilles à Gram négatif, en particulier les Entérobactéries	Bactéricide
Aminosides	Bacilles à Gram négatif et les staphylocoques.	Bactéricide
Cyclines	Bacille à Gram négatif, Staphylocoques, Brucella, Mycoplasme, etc.	Bactériostatique
Macrolides	Cocci à Gram positif et à Gram négatif, bacilles à Gram positif.	Bactériostatique
Phénicols	La plupart des bactéries à Gram positif et à Gram négatif	Bactériostatique
Quinoléines	Principalement actif sur les bactéries à Gram négatif sauf <i>Pseudomonas</i>	Bactéricide
Sulfamides	La majorité des espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif	Bactériostatique
Autres antibiotiques ex : Acide fusidique	La plupart des coques à Gram positif et à Gram négatif Antistaphylococcique	/

A decorative graphic on the left side of the page consists of three overlapping, semi-transparent rectangles: a blue one at the top, a red one at the bottom left, and a yellow one at the bottom right. A solid blue line starts vertically from the top of the blue rectangle, crosses it, then continues horizontally across the page, passing through the red and yellow rectangles.

II. Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes.

But du travail.

Notre travail est divisé en deux parties, une partie consiste à faire un contrôle microbiologique et physicochimique du lait ainsi que du Lben, la deuxième partie est réservée à l'étude de la sensibilité des germes isolés intentionnellement pour estimer le degré d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin dans la wilaya de Jijel.

II-1. Matériel.

II-1-1 Echantillons.

Les échantillons récoltés sont constitués par le lait cru, Lben préparés et commercialisés traditionnellement et vendus dans des sachets.

II-1-2. Milieux de culture.

Milieux solides.

- Le milieu « PCA » pour le dénombrement de la flore totale mésophile.
- La gélose au désoxycholate 0.1% pour le dénombrement des coliformes.
- Le Milieu « OGA » pour le dénombrement des levures et moisissures.
- Le milieu « Baird-Parker » pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- Le milieu « VF » pour la recherche des *Clostridium* sulfitoréducteurs.
- Le milieu « Hektoen » pour l'isolement de *Salmonella*.
- La gélose nutritive « GN » pour l'isolement et la purification des souches.
- Le milieu « Mueller-Hinton » pour la réalisation d'antibiogramme.
- Milieux TSI, Mannitol mobilité pour l'identification d' *E.coli*.
- Milieu gélose au sang pour réaliser le test d'hémolyse.

Milieux liquides.

- Milieu « Rothe » et « EVA-Litsky » pour la recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.
- Milieu « SFB » pour l'enrichissement de *Salmonella*.
- Milieu « Giolitti-cantoni » pour l'enrichissement de *Staphylococcus aureus*.
- Milieux : LDC, ODC, ADH, urée-indole, milieu nitrate pour l'identification d' *E.coli*.

III-1-3. Produits chimiques et réactifs.

- Le violet de gentiane
 - La fushine
 - Le lugol
 - L'alcool
 - L'huile de cèdre
- } Pour la coloration de Gram
- Le bleu de méthylène pour la mesure de l'activité réductase.
 - Le phénol phtaléine
 - La soude Dornic
- } Pour le dosage de l'acidité
- Le réactif de Kovacs
 - Le réactif Nitrate I, Nitrate II
- } Pour l'identification d' *E.coli*.

III-1-4. Autres matériel.**Appareillages.**

- L'étuve.
- Four Pasteur, four à moufle.
- pH mètre.
- Le microscope optique.
- Bain marie.
- Balance analytique.

Verrerie et autres.

- Pipettes gradués.
- Tubes à essai stériles.
- Pipettes Pasteur.
- Bêchers.
- Boîtes de Pétri stériles.

II-2. Méthodes de travail.**II-2-1. Echantillonnage.**

Les échantillons ont été achetés d'une manière périodique durant cinq semaines chez des fournisseurs de trois localités : Taher, El-Aouana et Jijel, puis acheminés dans des glaciers au laboratoire microbiologique de la faculté des sciences d'université de Jijel.

Tableau N°10 : Les différentes localités et nombre de prélèvements des échantillons élémentaires analysés.

Régions	Nombre d'échantillon		
	Lait	Lben	Total
Taher	5	5	10
El-Aouana	5	5	10
Jijel	5	5	10
Total	15	15	30

II-2-2. Préparation des échantillons.

Après avoir pris soin de bien homogénéiser les sachets renfermant les échantillons par retournement manuel successif (7 fois), l'angle de sachet est ouvert aseptiquement à l'aide d'une pince stérile. Ainsi l'échantillon destiné pour l'analyse microbiologique est mis dans un flacon stérile de 250 ml il constitue la solution mère, une autre quantité suffisante est destinée pour réaliser les tests physicochimiques.

Cette méthode est la même aussi bien pour le lait que pour Lben.

II-2-3. Analyse physicochimique.**a. Mesure du pH et de l'acidité.**

Le pH et l'acidité titrable sont deux concepts liés à l'acidité, mais déterminés de façon différentes. Chacun a sa propre incidence sur la qualité du lait (DEBRY, 2001).

a-1. pH.

Les valeurs du pH représentent l'état de fraîcheur du lait, plus particulièrement ce qui concerne sa stabilité et contrairement à l'acidité titrable, le pH ne mesure pas la concentration des composés acides mais plutôt la concentration des ions H^+ en solution (DEBRY, 2001).

Méthode.

On remplit un bécher par un volume de l'échantillon à analyser puis on introduit l'électrode de pH-mètre dans le bécher et on note les valeurs enregistrées sur l'écran. (GUIRAUD, 1988).

a-2. Acidité.

La mesure de l'acidité titrable permet de vérifier la qualité du lait. Dans un lait altéré, l'augmentation d'acidité est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose. (DEBRY, 2001).

Méthode.

Selon la méthode décrite par GUIRAUD (2003), un échantillon de 10 ml est placé dans un bécher puis titré en présence de 5 gouttes de phénol-phtaléine 1% par la soude Dornic (N/9) jusqu'au virage au rose pâle dont la couleur doit persister pendant 10 secondes.

L'acidité obtenue est exprimée en degré Dornic selon la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

V_{NaOH} : volume de la soude utilisé pour titrer les 10 ml de l'échantillon à analyser.

b. Stabilité du lait à l'ébullition.

Le test de la stabilité à l'ébullition permet de révéler la stabilité du lait à la chaleur. En effet, une précipitation due au développement des microorganismes peut apparaître après ébullition du lait (BOURGOIS, 1991).

Méthode.

Transférer 5 ml de lait dans un tube stérile, puis le placer dans un bain d'eau bouillon pendant 10 min. après refroidissement sous un courant d'eau froide, observer la présence éventuelle de floculation, précipitation ou la formation d'un coagulum. (BOURGOIS, 1991).

c. Mesure de l'activité réductase.

Ce test est appliqué pour mesurer d'une façon indirecte la densité bactérienne du lait (BOURGOIS, 1991). En effet, la plupart des bactéries possédant une enzyme réductase capables de réduire le bleu de méthylène, indicateur de potentiel redox, il est bleu en milieu très oxydant, blanc en milieu réducteur. La durée au bout de la quelle il y a changement de couleur d'un lait additionné de bleu de méthylène permet d'apprécier la charge microbienne du milieu, plus il y a de bactéries plus le bleu de méthylène est réduit rapidement. (JOFFIN et JOFFI, 1999).

Méthode:

Selon la méthode décrite par JOFFIN et JOFFIN (1999), placer 10 ml du lait dans un tube stérile, ajouter 1 ml de bleu de méthylène et réaliser en parallèle un témoin avec du lait bouilli. Mélanger puis incuber à 37°C et observer le résultat au bout de 15 min, 1 heure, puis 3 heures.

Tableau N°11 : Mesure de l'activité réductase (JOFFIN et JOFFI, 1999).

Temps au bout du quel il y a décoloration	Conclusion
- Avant 15 minutes	- Lait très fortement contaminé
- Entre 15 minutes et 1 heure	- Lait fortement contaminé
- Entre 1 heure et 3 heures	- Lait légèrement contaminé
- Plus de 3 heures	- Lait de qualité satisfaisante

d. Détermination de la matière sèche.

Cette méthode est basée sur l'évaporation de l'échantillon à analyser dans un four à 120°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant afin d'estimer le pourcentage de la matière sèche dans l'échantillon.

Méthode.

Dans un creusé bien séché et préalablement taré, on met 10 ml de lait, ensuite on le place dans le four à 120°C pendant 3 heures, après évaporation on pèse le résidu. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (ADRIAN et *al*, 1998).

Le pourcentage de la matière sèche est mesuré selon la formule suivante :

$$MS (\%) = x / y \cdot 100$$

MS : matière sèche.

X : poids de l'échantillon en gramme après évaporation.

Y : poids de l'échantillon en gramme avant évaporation.

e. Détermination de la matière minérale.

Elle est obtenue par la même méthode appliquée pour la détermination de la matière sèche, sauf que l'évaporation est effectuée dans un four à 500°C pendant 4 heures (ADRIAN et *al*, 1998) est exprimée selon la formule suivante :

$$MM (\%) = x / y \cdot 100$$

MM : matière minérale.

f. Détermination de la matière organique.

Elle est obtenue par la différence entre le pourcentage de la matière sèche et le pourcentage de la matière minérale selon la formule :

$$MO (\%) = MS(\%) - MM(\%)$$

MO : matière organique.

II-2-4. Analyse microbiologique.

a. Préparation des dilutions.

La préparation des dilutions décimales est faite aseptiquement selon la méthode décrite par JOFFIN et JOFFIN (1999) :

- 1 ml de la solution mère est prélevé par une pipette stérile est introduit dans un tube à vis contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, il représente la dilution 10^{-1} .
- A l'aide d'une nouvelle pipette stérile, prélever 1 ml de la dilution 10^{-1} puis l'introduire dans un 2^{ème} tube contenant 9 ml d'eau physiologique, on obtient la dilution 10^{-2} .
- Continuer de la même manière jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-6} pour le lait et 10^{-4} pour le Lben.

b. Recherche et dénombrement des flores.

b-1. Dénombrement de la flore totale mésophile.

La flore mésophile représente l'ensemble des micro-organismes aero-anaérobies facultatifs aptes à se multiplier à température de 25 à 40°C.

Son dénombrement est effectué selon la méthode décrite par l'Art N°12.97.73 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère de commerce avec modification.

But.

Le dénombrement de cette flore permet d'estimer le degré de la contamination microbienne et la qualité hygiénique du produit. (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Principe.

Il consiste à mettre en culture sur gélose une préparation ou un échantillon. Chaque colonie qui pousse à la surface de la gélose représente une bactérie, et l'ensemble des colonies représente le nombre des bactéries présentes dans le prélèvement (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Technique.

- Faire fondre la gélose « PCA » dans un bain marie à 100°C puis la refroidir à 45°C.
- A l'aide d'une pipette stérile, prélever 1 ml de la dilution 10^{-6} et l'introduire dans la boîte de pétri.
- Faire couler aseptiquement la gélose et homogénéiser le tous, laisser gélifier puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture.

Dénombrer toutes les colonies lenticulaires apparentes dans les boîtes contenant 30 à 300 colonies.

b-2. Dénombrement des coliformes totaux (CT).

Les coliformes sont des Entérobactéries fermentent le lactose à 30°C avec production de gaz. Ils sont des bactéries commensales de l'intestin de l'homme et des animaux.

Leur dénombrement est effectué selon la méthode décrite par l'Art N°10.96.66 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère de commerce avec modification.

But.

Le dénombrement des coliformes permet de révéler la présence ou l'absence d'une contamination fécale (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Principe.

Il est basé sur l'aptitude des coliformes à dégrader le lactose dans un milieu lactosé en acidifiant le milieu (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Technique.

- Faire fondre la gélose désoxycholate puis la refroidir à 45°C.
- A partir de la dilution 10^{-3} , prélever 1 ml de l'inoculum puis le déposer dans une boîte Pétri bien identifiée sous forme des gouttes.
- Couler la gélose dans la boîte contenant l'inoculum et bien homogénéiser le tous.
- Laisser prendre en masse et incubé à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture.

Compter les colonies de couleur rouges et ayant au mois 0.5 mm de diamètre pour les boites contenant 15-150 colonies.

b-3. Dénombrement des coliformes thermotolérants (CTT).

Les coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux sont des coliformes fermentant le lactose à 44°C avec production de gaz.

Leur dénombrement a le même but, principe et technique comme pour les coliformes totaux sauf que l'ensemencement d'inoculum est fait à partir de la dilution 10^{-2} et l'incubation est faite à 44°C pendant 24-48 h. Il est effectué selon la méthode décrite par l'Art N°12.97.73 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère de commerce avec modification.

b-4. Recherche et dénombrement de levures et moisissures.

Les levures et moisissures sont des micro-organismes aérobies, elles sont en général acidophiles et mésophiles. Leur dénombrement est effectué selon la méthode décrite par l'Art N°12.97.73 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère de commerce avec modification.

But.

Les levures et moisissures peuvent être à l'origine d'une contamination des produits alimentaires, leur dénombrement reflète la qualité hygiénique de ces produits ainsi que les conditions de conditionnement et de vente (LARPENT, 1997).

Principe.

Le principe est basé sur la germination des spores fongique qui se trouve dans le produit alimentaire (LARPENT, 1997).

Technique.

- Couler la gélose « OGA » déjà fondue dans une boîte de Petri et laisser prendre en masse.

- A l'aide d'une pipette stérile, prélever 0.1 ml de la dilution 10^{-5} pour le lait et 10^{-4} pour le Lben puis le déposer sur la surface de la gélose et étaler par un râteau.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture.

Les levures se présentent sous forme de colonies rondes plus ou moins bombées ou plates. Les moisissures présentent en aspect cotonneux et filamenteux.

b-5. Dénombrement des *Clostridium* sulfitoréducteurs (CSR).

Les *Clostridium* sulfitoréducteurs sont des bâtonnets Gram⁺, anaérobies strictes, sporulés rencontrés dans le sol, les eaux d'égout et principalement dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Leur dénombrement est effectué selon la méthode décrite par les normes françaises NFT 90- 415, octobre 1985 avec modification.

But.

La présence des *Clostridium* sulfitoréducteurs est un indicateur d'une contamination fécale ancienne. Ils sont parfois à l'origine d'une grave intoxication alimentaire comme dans le cas du *Clostridium perfringens* (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Principe.

Les *Clostridium* sulfitoréducteurs sont des anaérobies strictes cultivant à 37°C , possédant des spores résistant au mois 10 min à 80°C , réduisant les sulfites en sulfures selon la formule (JOFFIN et JOFFIN, 1999):



Technique.

- pour chaque échantillon, 5 ml de la solution mère est placée dans des tubes stériles puis portée au bain marie à 80°C pendant 10 min afin de détruire les formes végétatives.
- Faire fondre la gélose « VF », refroidir à 45°C puis ajouter l'additif alun de fer et sulfite de sodium.
- Verser la gélose dans les tubes contenant l'échantillon traité, mélanger sans faire des bulles d'air et solidifier sous un courant d'eau froide.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture.

La présence des CSR se traduit par l'apparition des colonies noires.

b-6. Recherche de *Staphylococcus aureus*.

Les Staphylocoques sont des Gram⁺, asporulés, catalase (+), ils sont des bactéries commensales de la peau des animaux et de l'homme.

Leur recherche et dénombrement sont effectués selon la méthode décrite par l'Art N°01.05.58-1 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère de commerce avec modification.

But.

Certaines espèces de Staphylocoques producteurs de coagulase sont pathogènes pour l'homme comme dans le cas de *Staphylococcus aureus*. Ils peuvent être à l'origine d'intoxinations (BOURGOIS, 1991).

Principe.

La recherche de *Staphylococcus aureus* s'effectue sur gélose Baird-Parker par l'ensemencement de 0.1 ml. Les colonies ont une couleur noire résulte de la réduction du tellurite en tellure, avec un halo clair dû à la protéolyse des protéines du jaune d'œuf et éventuellement un liserie blanc opaque dû à la précipitation des acides gras (BOURGOIS, 1991).

Technique.

- Enrichissement.

- A partir de la solution mère et à l'aide d'une pipette stérile, prélever 1ml et l'introduire dans un tube contenant 9 ml du milieu « Giolitti-cantoni ».
- Bien mélanger puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture.

Un résultat positif se traduit par un noircissement de tube.

- Ensemencement.

- Dans des boîtes Pétri, couler la gélose Baird-Parker déjà fondue et laisser prendre en masse.
- A partir des tubes positifs de l'enrichissement et à l'aide d'une pipette pasteur prendre 0,1 ml et le déposer sur la surface du milieu puis étaler par un râteau.
- Laisser sécher et incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture.

Les colonies suspectes sont noires, convexes, brillantes, de diamètre compris entre 0,5 et 2 mm, avec un liseré blanc opaque entouré d'une auréole claire.

L'identification se fera par la réalisation d'une coloration de Gram, un test de catalase et principalement un test de la coagulase.

b-7. Recherche de *Salmonella*.

Les Salmonelles sont des bacilles appartient à la famille des Entérobactériaceae, aérobies facultatifs, habituellement immobiles, cultivant bien sur les milieu nutritives ordinaires.

Sa recherche est effectuée selon la méthode décrite par l'Art N° 12.97.73 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère du commerce et modifiée.

But.

Les Salmonelles font partie des bactéries entéro-pathogènes invasives provoquant des gastro-entérites et des graves toxi-infections. Leur recherche permet donc d'estimer le danger qui peut représenter un aliment sur le consommateur (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Principe.

Le nombre de *Salmonella* étant en général faible dans le produit, il est nécessaire de procéder à un enrichissement dans un milieu sélectif (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Technique.

- Enrichissement.

Prélever 1 ml de la solution mère et le déposer aseptiquement dans un tube contenant le milieu SFB, puis incuber à 37°C pendant 24 h.

Lecture.

Le développement bactérien se traduit par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

- Isolement.

- A partir des tubes de SFB (D/C), on prélève une goutte avec l'anse de platine stérile et l'on dépose au bord d'une boîte de Pétri contenant le milieu Hektoen préparé préalablement.
- Flamber l'anse de platine, laisser refroidir et faire un isolement par épuisement en surface.

Lecture.

Les colonies bleues vertes seront purifiées et identifiées par les méthodes biochimiques.

b-8. Recherche des Streptocoques fécaux.

Les Streptocoques fécaux sont des bactéries Gram⁺, catalase négative, appartiennent au genre *Entérocooccus*, ils sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux.

Leur recherche est effectuée selon la méthode décrite par l'Art N° 12.97.73 relative aux méthodes d'analyse émanant du ministère du commerce et modifiée.

But.

Les Streptocoques fécaux sont considérés comme un indicateur d'une contamination fécale du produit alimentaire. Leur recherche nous renseigne sur la qualité hygiénique de ce produit.

Principe.

Le principe est basé sur l'aptitude des Streptocoques fécaux à se multiplier dans des milieux contenant des agents sélectifs inhibiteurs des autres microorganismes : l'azide de N₃⁻ dans le milieu de Rothe et l'azide plus l'éthyle violet dans EVA-Litsky.

Technique.

- Test présomptif (enrichissement).

A l'aide d'une pipette stérile, prélever 1 ml de la solution mère et le déposer dans un tube contenant le milieu de Rothe (D/C), puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture.

Les tubes contenant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

- Test confirmatif.

A partir du tube de Rothe positif bien agité, reporter une anse du contenu dans un tube de EVA-Litsky, incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture.

Les tubes présentant un trouble homogène et une pastille violette au fond (non constante) contiennent au moins un Streptocoque fécale.

Dans le but d'une continuation de notre travail et à partir du milieu EVA-Litsky positif, on fait un isolement sur la gélose nutritive. Les colonies suspectes de Streptocoques sont purifiées et identifiées, puis conservées sur gélose nutritive inclinée.

c. Identification des germes.

Cette étape a pour but d'identifier les différentes souches purifiées à partir des milieux : Hektoen, gélose nutritive et Baird-Paker.

c-1. Les microcoques.

L'identification des Streptocoques et des Staphylocoques repose sur les caractères suivantes : coloration de Gram, test de catalase et ainsi un test d'hémolyse pour les Streptocoques et de coagulase pour les Staphylocoques.

c-1-1. Streptocoques.

Les souches purifiées et conservées sont réensemencés sur gélose nutritive.

• **Coloration de Gram.**

Préparation de frottis.

- Sur une lame dégraissée, déposer une goutte d'eau distillée stérile, puis étaler une colonie prélevée de la gélose nutritive et laisser sécher.
- Fixer le frottis en le passant légèrement 2 à 3 fois sur la flamme de bec bunsen.

Coloration.

- Recouvrir la lame par le violet de gentiane pendant 1 min, puis laver.
- Ajouter le lugol et laisser réagir pendant 5 min et rejeter.
- Décolorer par l'alcool 95°, puis rincer à l'eau.
- Recouvrir la lame par la fushine, laver abondamment, laisser sécher et observer à l'immersion.

Lecture.

Les Streptocoques sont des cocci Gram positif.

• **Test de catalase.**

- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie suspecte et la déposer sur une lame stérile.
- Ajouter une goutte d'eau oxygénée et observer l'absence ou la présence d'un dégagement gazeux.

Lecture.

Les Streptocoques sont des catalases (-).

- **Test d'hémolyse.**

Principe.

L'étude de la pathogénicité des Streptocoques est liée à la recherche de l'existence de l'hémolysine qu'il s'agit d'enzymes responsable de la lyse des hématies, les bactéries qui possèdent l'hémolysine dégradent donc l'hémoglobine (GUIRAUD, 1998).

Technique.

Le caractère hémolytique est étudié directement par ensemencement d'une gélose au sang humain par la bactérie. Après incubation à 37°C pendant 24 h, l'aspect de la gélose autour des colonies est examiné (GUIRAUD, 1998).

Lecture.

L'apparition des auréoles (zones) claires autour des colonies signifie la présence d'enzyme hémolysine.

c-1-2. Staphylocoques.

- **Coloration de Gram et test de catalase.**

Elles sont effectuées par les mêmes méthodes décrites pour les Streptocoques. Les Staphylocoques sont des Gram⁺, catalase (+).

- **Test de coagulase.**

La coagulase est une enzyme transforme le fibrinogène en fibrine ce qui provoque une coagulation du sérum.

Technique.

- Prélever une colonie caractéristique et l'ensemencer dans un bouillon cœur-cervelle puis incubé à 37°C pendant 24 h.
- Après incubation déposer 1 ml du bouillon cœur-cervelle dans un tube contenant 1 ml du sérum humain.
- Incuber à 37°C et examiner la formation du coagulum après 4 heures puis après 24 heures.

Lecture.

La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma est coagulé.

c-2. Les Entérobactéries.

Les différentes colonies de couleur rouge brique considérées comme des Entérobactéries lactose (+) qui ont été isolées de l'Hektoen lors de la recherche de *Salmonella* et purifiées ont fait l'objet d'une identification par une mini-galerie biochimique selon la méthode décrite par CARBONELLE et al. (1987).

c-2-1. Etude du métabolisme glucidique.

- **Fermentation du mannitol.**

Le milieu mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité des germes.

Technique.

Ensemencer le milieu mannitol-mobilité par piqûre central et incubé à 37°C/24h.

Lecture.

Un virage du rouge au jaune se traduit par fermentation du mannitol. La mobilité se traduit par la diffusion des germes à partir de strie d'ensemencement.

• **Fermentation des sucres en milieu TSI.**

Le milieu TSI est utilisé essentiellement pour le diagnostic des Entérobactéries. Il permet d'étudier la fermentation du glucose au niveau du culot et le lactose plus le saccharose au niveau de la pente, la production du gaz ainsi que l'H₂S

Technique.

Ensemencer le culot par piqûre centrale et la pente par des stries superficielles, incubé à 37°C/24h.

Lecture.

- Le virage de la couleur vers le jaune indique la fermentation des sucres.
- La formation des bulles d'air et/ou décollement de la gélose indique la production du gaz.
- La production d'H₂S se traduit par un noircissement de tube.

c-2-2. Etude du métabolisme protéique.

• **Production d'indole.**

Principe.

La présence d'une enzyme TDA permet à la bactérie d'hydrolyser le tryptophane jusqu'au stade d'indole, ce dernier réagit avec le réactif de « KOVACS » et donne un anneau rouge vernillon.

Technique.

Ensemencer le milieu urée-indole par une öse de culture, incubé 37°C/24h puis ajouter trois gouttes de réactif de KOVACS.

Lecture.

La présence d'uréase se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violet.

La présence d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge en surface.

• **Recherche des décarboxylases et des déshydrogénases.**

Les principales enzymes recherchées sont : l'ornithine décarboxylase (ODC), la lysine décarboxylase (LDC) et l'arginine dihydrolase (ADH).

Technique.

- Pour la recherche d' ODC, LDC et ADH, semer respectivement trois tubes contenant le milieu moeller enrichi avec l'ornithine, milieu moeller enrichi avec la lysine et enfin milieu moeller enrichi avec l'arginine.
- Incuber à 37°C/24h.

Lecture.

Un résultat positif se traduit par l'inchangement de la couleur violette.

II-2-5. Test de la sensibilité aux antibiotiques.

But.

L'antibiogramme est un test bactériologique qui permet de déterminer la sensibilité de la bactérie à un ou plusieurs antibiotiques, il permet aussi de guider la prescription et de surveiller les résistances acquises des bactéries aux antibiotiques (CARBONELLE et *al.*, 1987).

Principe.

La technique utilisée est la méthode de diffusion en milieu gélosé qui consiste à ensemencer ce milieu par le germe à étudier et à déposer ensuite les disques d'antibiotiques. Il se produit une compétition entre deux phénomènes :

- la diffusion de l'antibiotique qui empêche la croissance de germe.
- La croissance de germe.

Après 18 h d'incubation, il y a un équilibre entre ces deux phénomènes et on note un diamètre d'inhibition de croissance autour de disque (THIERRY, 1994).

Méthode.

La méthode utilisée est celle de la diffusion sur gélose décrite par CARBONELLE et *al.* (1987) et modifiée selon les conditions de travail au laboratoire. Elle est effectuée sur 10 souches bactériennes de Streptocoques et 10 autres d'*E.coli*.

• **Préparation du milieu gélosé.**

Faire fondre la gélose Mueller-Hinton dans un bain marie à 100°C puis la couler dans des boîtes de Pétri à une épaisseur de 4 mm et laisser prendre en masse.

• **Préparation de l'inoculum.**

A partir d'une culture bactérienne pure, prélever une colonie à l'aide de l'anse de platine stérile, décharger le dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique. On mesure leur densité optique, cette dernière doit être équivalente à 0,08 à 0,1 lue à 625 nm. la densité peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture si elle est trop faible ou bien d'eau physiologique stérile si elle est trop forte, l'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

• **Ensemencement.**

- Verser la suspension bactérienne dans une boîte Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, aspirer le liquide en excès et le rejeter dans un bac contenant un désinfectant.
- Les boîtes ensemencées sont séchées dans une étuve.

• **Application des disques.**

Après séchage des boîtes, les disques choisis sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte. Les disques doivent être espacés de 24 mm centre à centre

de sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas. Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 h.

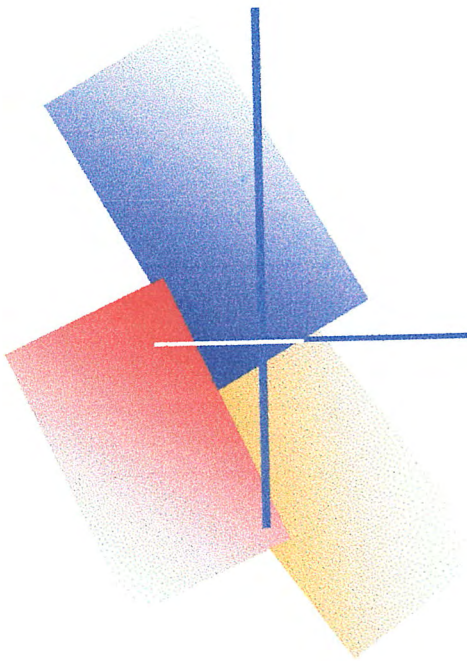
Tableau N°12 : Liste des antibiotiques testés.

Famille	Antibiotique	Code	Charge ($\mu\text{g/ml}$)
B-Lactamine	Ampicilline	AM	10
	Amoxicilline	AMX	25
Aminosides	Streptomycine	S	10
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30

Lecture.

- Mesure avec précision le diamètre de la zone d'inhibition de chaque antibiotique.
- Comparer les résultats aux valeurs critiques figurant dans le tableau (annexe).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

III. *Résultats* ***et discussion***



III. Résultats et discussion.

III-1. Résultats de l'analyse physicochimique.

III-1-1. Résultats de la mesure du pH.

Les résultats de l'évolution du pH du lait cru ont montré que les valeurs du pH varient entre 6,67 et 6,88 pour les échantillons de la région de Taher, entre 6,38 et 6,90 pour la région de Jijel et de même 6,53 et 6,86 pour celle d'El-Aouana (Tableau N°13, Figure N°3).

Ces résultats ne varient pas d'une manière significative ($p < 0,05$) pour l'ensemble des échantillons analysés lors de notre travail.

La majorité des échantillons présentent des valeurs légèrement supérieures à celle fixés par la norme AFNOR (1980) relative au pH qui est de 6,5 à 6,7 avec un écart allant jusqu'à 0,2.

En effet, les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec celles notés par VIGNOLA (2002) qui sont de 6,6 à 6,8 pour un lait frais.

Cependant un échantillon représente un pH relativement acide (6,38) noté au niveau de la région de Jijel. Cette légère acidité est due à la dégradation des acides par les micro-organismes avec formation d'ions d'hydronium (DEBRY, 2001).

Pour l'ensemble des échantillons analysés du Lben, les valeurs du pH enregistrés varient entre 4,71 et 5,08 pour la région de Taher, 4,59 et 4,95 pour la région de Jijel, 4,71 et 5,13 pour la région d'El-Aouana (Tableau N°13, Figure N°4).

Néanmoins, l'analyse statistique de KRUSKAL-WALIS a montré que ces résultats varient d'une manière non significative ($p \leq 0,05$) selon les régions et au cours du temps.

L'ensemble des résultats obtenus sont supérieurs à celles retrouvés par TANTAOUI (1987) dans son étude sur le Lben artisanal marocain et HARRATI (1974) sur le Lben traditionnel algérien qui ont une moyenne de 4,2. Par contre, ils sont en accord avec celles obtenus par KECHA (1987).

Tableau N°13 : Evolution de pH du lait cru et du Lben.

pH	Semaines		Echantillons	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS
	Régions									
NS	Taher	Lait	6,76	6,87	6,67	6,88	6,74	6,78	NS	
		Lben	5,08	4,92	4,85	4,95	4,71	4,90		
	Jijel	Lait	6,52	6,38	6,90	6,76	6,88	6,68		
		Lben	4,84	4,59	4,85	4,84	4,95	4,81		
	El-Aouana	Lait	6,74	6,53	6,68	6,80	6,86	6,72		
		Lben	4,83	5,13	4,78	4,81	5,01	4,91		
SS			NS							

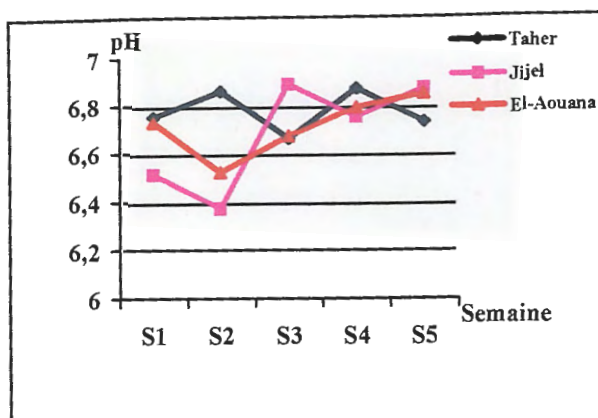
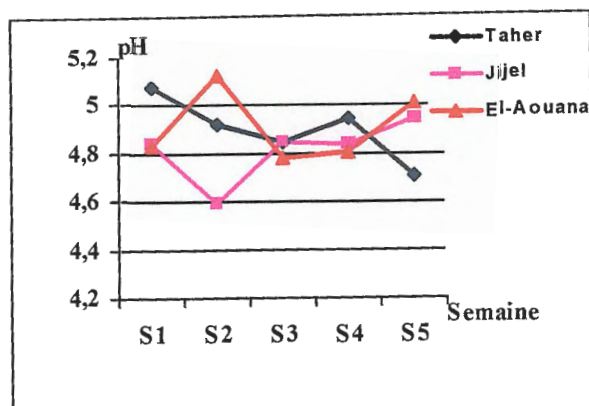


Figure N°3: Evolution de pH du lait cru. Figure N°4 : Evolution de pH du Lben.

III-1-2. Résultats de la mesure de l'acidité.

Les échantillons du lait démontrant des valeurs d'acidité titrable varient de 12 D° à 19 D° pour la région de Taher, 14°D à 20°D pour Jijel et 18 à 20°D pour celle de El-Aouana. (Tableau N°14, Figure N°5).

Le test statistique de KRUSKAL-WALIS a montré que la variabilité des résultats est non significative ($p < 0,05$). En effet le facteur région et temps n'ont aucun effet sur les résultats.

Par comparaison avec la norme AFNOR (1980) fixant les valeurs d'acidité d'un lait cru à 14°D jusqu'à 18°D, nous remarquons que notre résultats sont en majorité supérieurs à la norme allant jusqu'à 22°D pour un échantillon prélevé de la région de Jijel et qui représente aussi le pH le plus acide comme on a dit précédemment.

L'augmentation de l'acidité est liée au développement de la flore originelle en produisant l'acide lactique par fermentation du lactose en présence des facteurs favorables tel que le non respect de la chaîne de réfrigération (GUIRAUD, 1998).

Elle peut être liée aussi à une contamination par une flore exogène de Bifidobactéries et des Entérobactéries (FAO, 1998).

En revanche, au niveau de la région du Taher et au cours de la 1^{ère} semaine, un échantillon a représenté une valeur (12°D) fortement inférieur aux normes et aux valeurs notées par VEISSEYRE (1979) (16°D à 18°D) d'un lait cru. Cette alcalinité est due probablement au mouillage du lait (BOUDHAIMI, 2002).

L'acidité titrable du Lben se situe entre 80°D-85°D pour la localité du Taher, 72°D et 92°D pour Jijel et 91°D jusqu'au 95°D pour El-Aouana (Tableau N°14, Figure N°6).

Le test statistique de KRUSKAL-WALIS démontre que l'ensemble des résultats ne varie pas significativement ($p < 0,05$) selon les régions et selon le temps.

Les valeurs de l'acidité titrable enregistrées au cours de la période d'étude sont proches de ceux obtenus par TANTAOUI et al. (1987) qui sont de 82°D.

Tableau N°14 : Evolution de l'acidité du lait cru et du Lben.

Acidité (°D)	Semaines		Echantillons	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS
	Régions									
NS	Taher	Lait		12	18	18	19	17	16,8	NS
		Lben		83	80	82	80	85	82	
	Jijel	Lait		20	22	14	19	19	18,8	
		Lben		82	89	72	92	86	84,2	
	El-Aouana	Lait		18	20	18	19	19	18,8	
		Lben		85	81	90	95	94	89	
SS			NS							

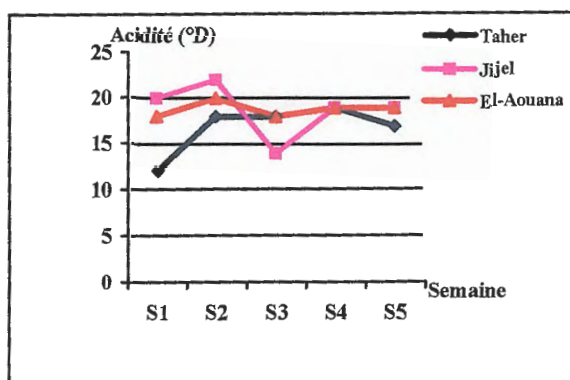


Figure N°5 : Evolution de l'acidité du lait cru.

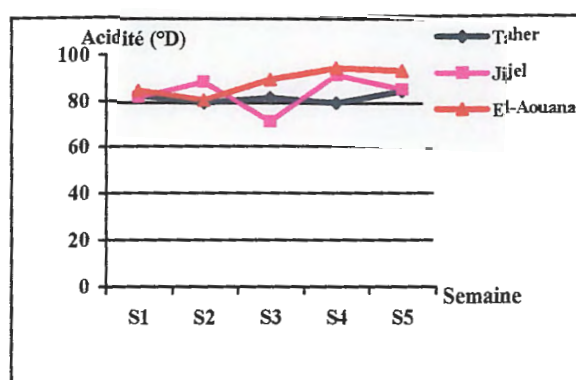


Figure N°6 : Evolution de l'acidité du Lben.

III-1-3. Résultats du test de la stabilité à l'ébullition et de l'activité de la réductase.

D'après les résultats obtenus (Tableau N°15), on remarque une absence de précipitation ou formation de coagulum pendant la période d'étude, donc il n'y a aucune modification due au développement microbien, ce qui explique une stabilité du lait à température ambiante.

Il ressort aussi qu'une réduction de bleu de méthylène entre 1 heure et 3 heures est observée pour la majorité des échantillons analysés ce qui indique que ces laits sont légèrement contaminés. Par contre des échantillons analysés au cours de la 1^{er} et la 2^{ème} semaine démontrent une décoloration de bleu de méthylène entre 15 minutes et 1 heure indique que ces laits sont fortement contaminés par les microorganismes. Les autres échantillons représentant une décoloration après 3 heures sont considérés comme des laits de qualité satisfaisante.

Tableau N° 15 : Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase de lait cru.

Lait cru				
	Tests	Taher	Jijel	El-Aouana
S ₁	Stabilité à l'ébullition	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation
	Activité réductase	Pas de décoloration	Décoloration entre 15 min – 1 h	Décoloration entre 1 – 3 h
S ₂	Stabilité à l'ébullition	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation	Absence de précipitation et coagulation
	Activité réductase	Décoloration entre 1 – 3 h	Décoloration entre 15 min – 1 h	Décoloration entre 15 min – 1 h
S ₃	Stabilité à l'ébullition	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation	Absence de précipitation et coagulation
	Activité réductase	Pas de décoloration	Pas de décoloration	Décoloration entre 1 – 3 h
S ₄	Stabilité à l'ébullition	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation.
	Activité réductase	Décoloration entre 1 – 3 h	Décoloration entre 1 – 3 h	Décoloration entre 1 – 3 h
S ₅	Stabilité à l'ébullition	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation.	Absence de précipitation et coagulation.
	Activité réductase	Décoloration entre 1 – 3 h	Décoloration entre 1 – 3 h	Décoloration entre 1 – 3 h

III-1-4. Résultats de la détermination de la matière sèche, minérale et organique.

- Matière sèche.

Les résultats de la matière sèche de l'ensemble des échantillons du lait cru analysés varient entre 83,3g/l et 114g/l (Tableau N°16, Figure N°17).

Ces résultats ne varient pas d'une manière significative ($p < 0,05$), les teneurs en matière sèche sont généralement faibles et inférieurs à celles notées par DEBRY (2001), VIGNOLA (2002) et VEISSEYRE (1999) qui se situent entre 125g/l et 135g/l.

La pauvreté en matière sèche peut être liée au facteur d'alimentation (WOLTER, 1997) ou d'un éventuel mouillage (BOUDHAIMI, 2002).

De même pour le Lben, les teneurs en matière sèche varient entre 81,6 g/l et 112g/l d'une manière non significative ($p < 0,05$) selon les régions et selon le temps. Elles sont

supérieurs à la norme (62g/l) fixée par l'arrêté du 5 août 1969 et proches à celles obtenues par TANTAOUI et *al.* (1987) lors de son étude sur le Lben artisanal marocain (89g/l).

- Matière minérale.

La matière minérale du lait analysé se situe entre 1,39g/l et 7,27g/l (Tableau N°16, Figure N°8). Elle varie non significativement selon l'origine et au cours du temps ($p \leq 0,05$).

Ces résultats sont légèrement inférieurs à la moyenne 6g/l à 9g/l (VIGNOLA, 2002). Cependant certaines d'entre eux sont fortement inférieures à la moyenne.

Pour le Lben, la détermination de la matière minérale démontre une variation des résultats d'une manière non significative ($p < 0,05$) entre 1,75g/l et 5,5g/l (Tableau N°17, Figure N°11). Ces résultats sont en accord avec celles obtenus par TANTAOUI et *al.* (1987).

- Matière organique.

La détermination de la matière organique nous a permis de constater que ces valeurs varient entre 81,64g/l et 113,93g/l pour l'ensemble des échantillons du lait analysés et entre 82,45 à 109,63g/l pour les échantillons du Lben (Tableau N°17, Figure N°9, 12).

Le test statistique de KRUSKAL-WALIS démontre que ces résultats varient non significativement ($p < 0,05$) selon les localités et au cours de la période d'étude.

La teneur en matière organique est variée en fonction de la variation de la matière sèche et minérale. L'effet du facteur de l'alimentation est principalement présent (WOLTER, 1979) et (VEISSEYRE, 1979).

Tableau N°16 : Evolution de la matière sèche, minérale et organique du lait cru (g/l).

	Lait de Taher			Lait de Jijel			Lait de El-Aouana			SS		
	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO
S ₁	96	1,53	94,7	102	4,08	97,92	107	1,39	105,61	NS	NS	NS
S ₂	113,4	6,80	106,6	97,9	5,87	92,03	113,2	6,79	106,41			
S ₃	114,2	3,76	110,44	83,3	1,66	81,64	121,2	7,27	113,93			
S ₄	90,9	4,84	86,06	108	6,6	101,4	111,1	5,66	105,44			
S ₅	103	2,06	100,94	97,8	5,75	92,05	101	1,97	99,03			
M	103,5	3,79	99,74	97,8	4,79	93	110,7	4,61	106,08			
SS	MS	NS										
	MM	NS										
	MO	NS										

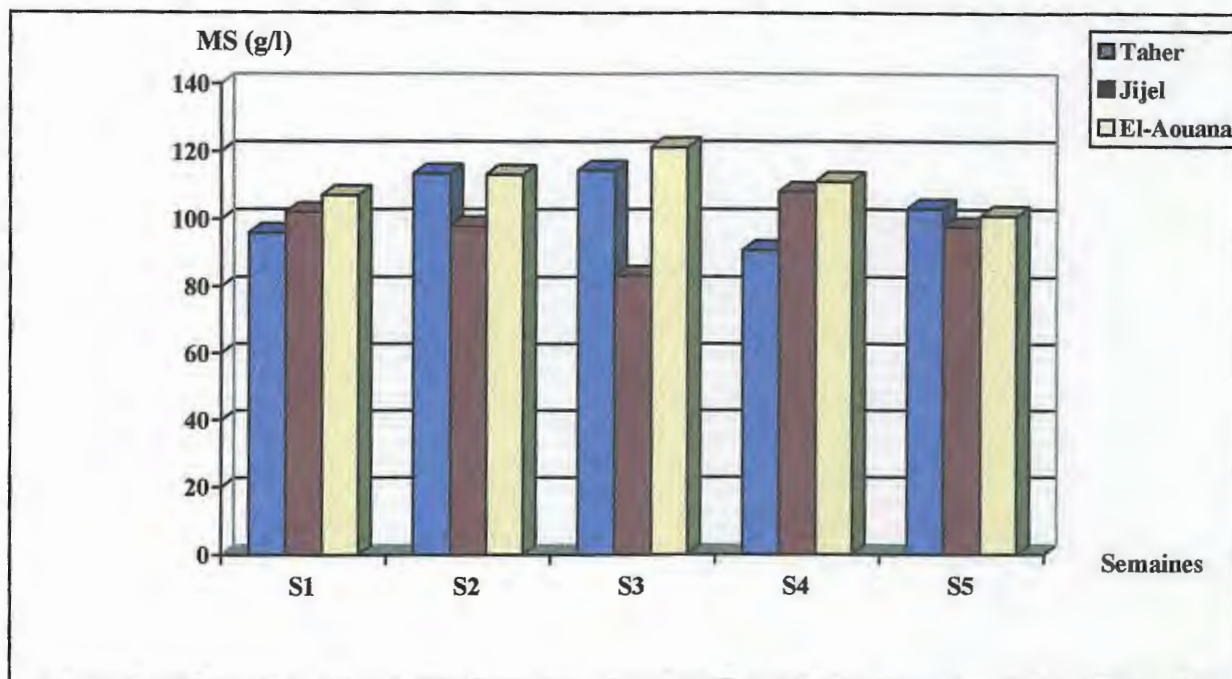


Figure N°7 : Evolution de la matière sèche du lait cru.

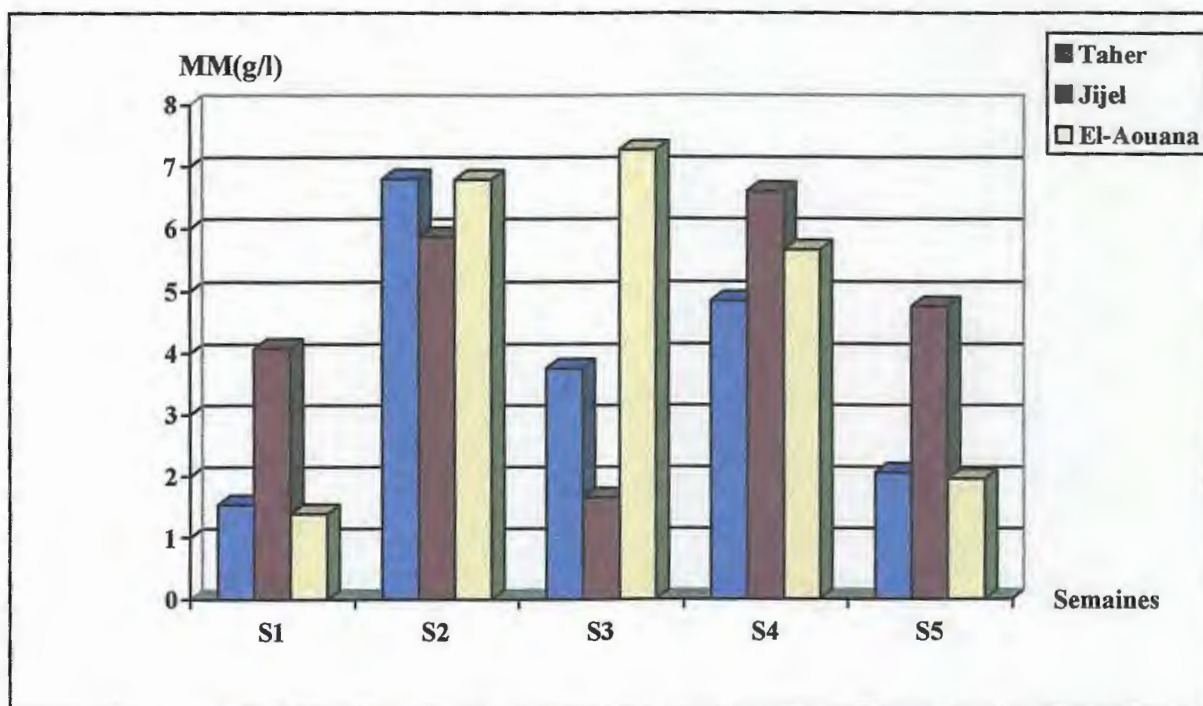


Figure N°8 : Evolution de la matière minérale du lait cru.

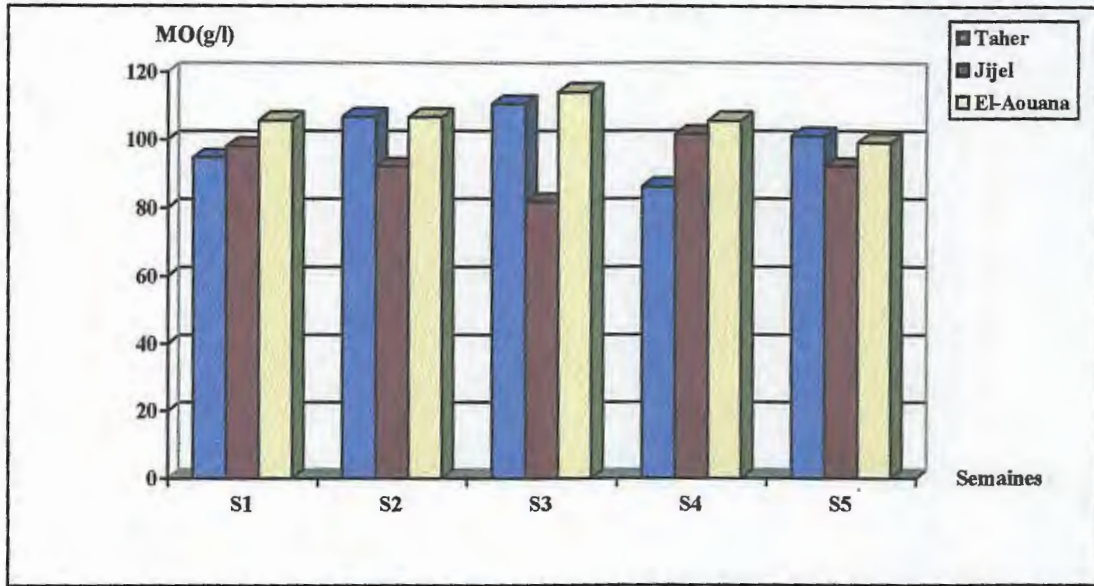


Figure N°9: Evolution de la matière organique du lait cru.

Tableau N°17 : Evolution de la matière sèche, minérale et organique du Lben (g/l).

	Lben de Taher			Lben de Jijel			Lben de El-Aouana			SS		
	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO
S ₁	102,5	2,16	100,34	90	1,89	88,2	112	2,37	109,63	NS	NS	NS
S ₂	100	3,12	96,88	101,3	4,25	97,05	84,2	1,75	82,45			
S ₃	108	4,42	103,58	88,8	3,64	85,16	81,6	4,99	76,61			
S ₄	90,9	1,81	89,09	84,4	1,75	82,65	92,7	4,44	88,26			
S ₅	95,7	3,90	91,8	91,8	5,50	86,3	93,7	1,98	91,72			
M	99,42	5,13	96,33	91,26	3,40	87,87	92,84	3,10	89,73			
SS	MS	NS										
	MM	NS										
	MO	NS										

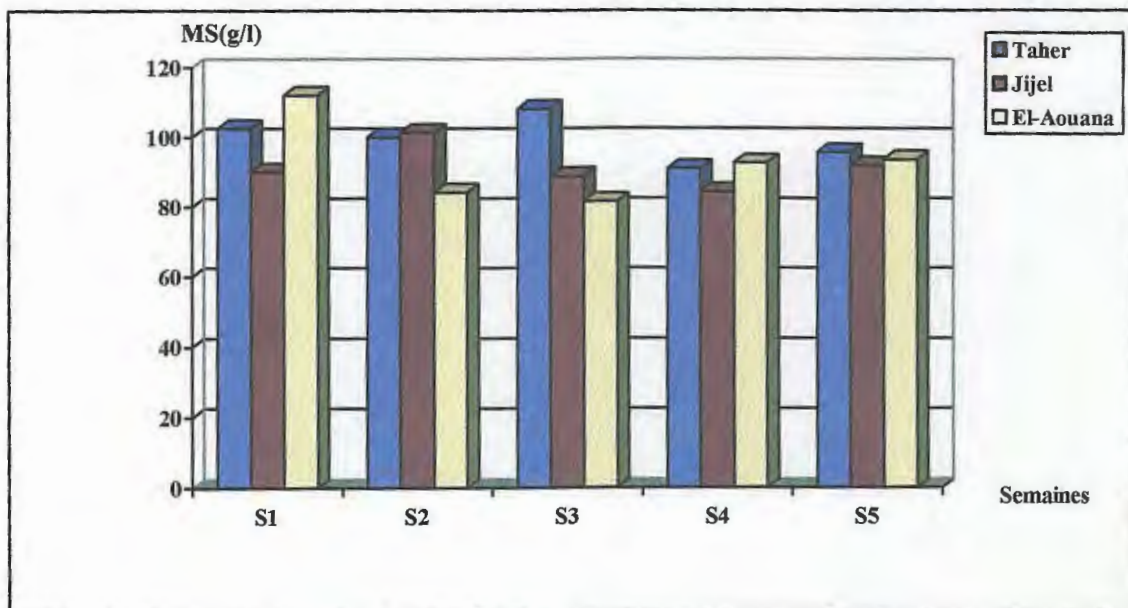


Figure N°10 : Evolution de la matière sèche du Lben.

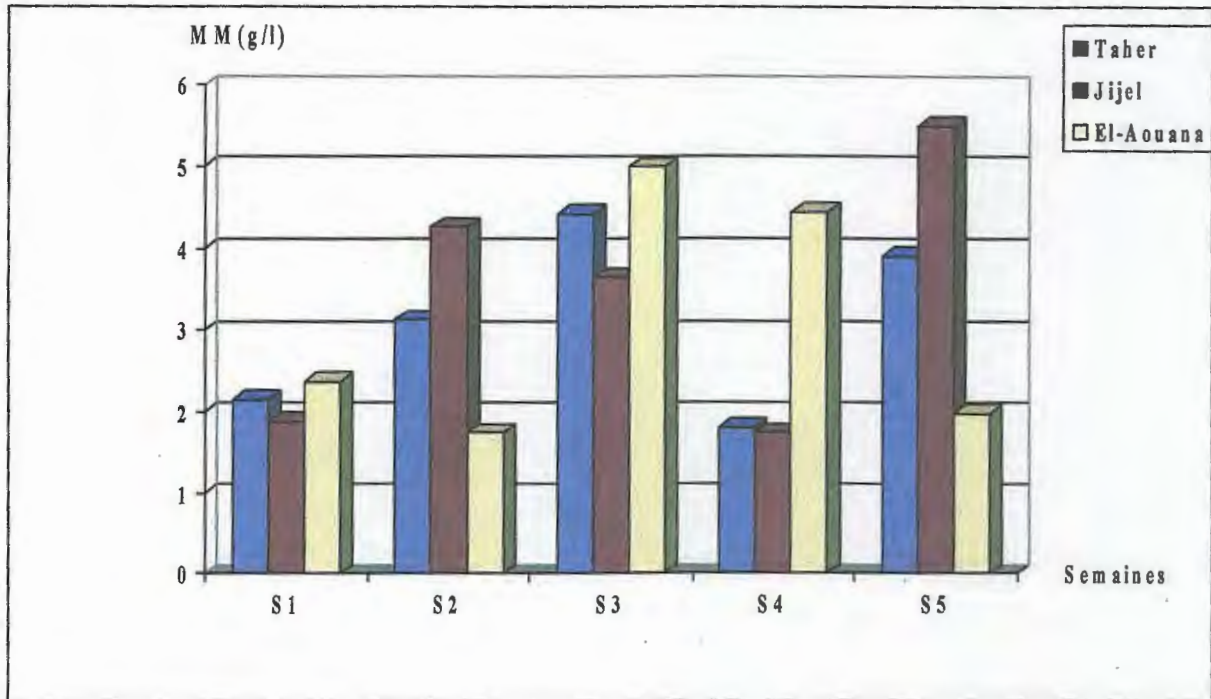


Figure N°11 : Evolution de la matière minérale du Lben.

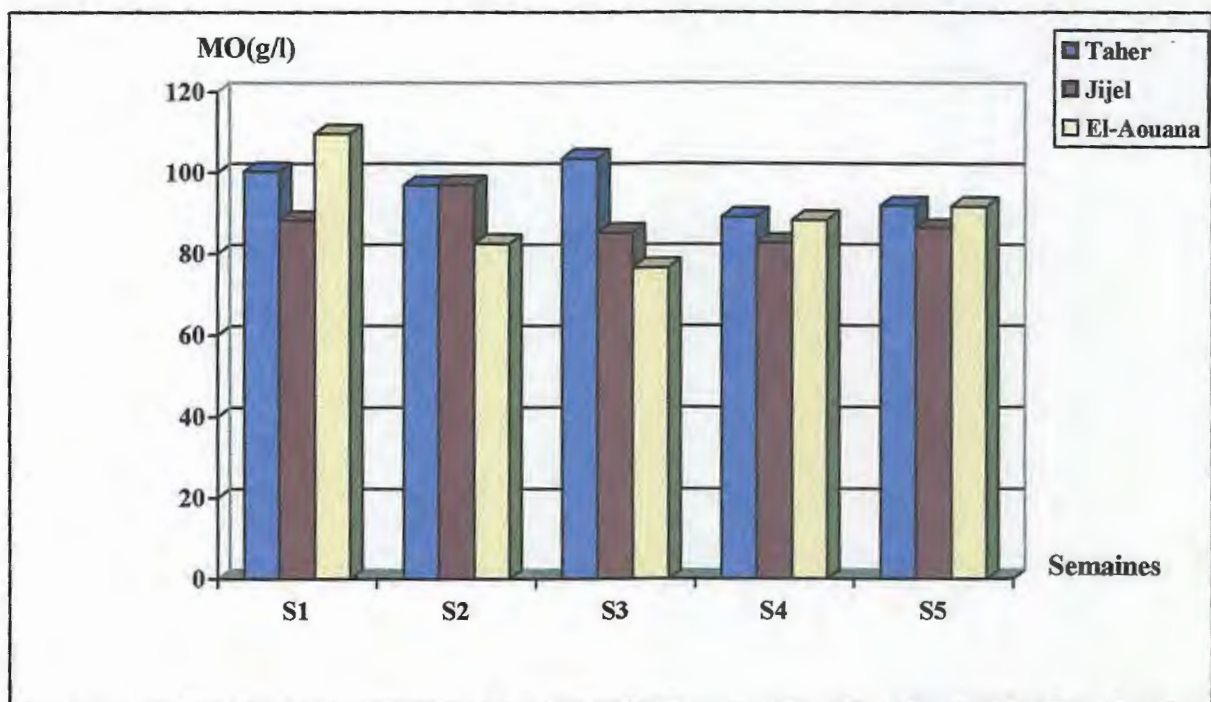


Figure N°12: Evolution de la matière organique du Lben.

III-2. Résultats de l'analyse microbiologique.

III-2-1. Résultat de la recherche et dénombrement des flores.

Tableau N°18: Résultats de l'analyses microbiologiques du lait cru.

Régions	Germes (G/ml)	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Taher	FTM	63.10 ⁶	51.10 ⁶	111.10 ⁶	23.10 ⁶	20.10 ⁶
	CT	116.10 ³	25.10 ³	88.10 ³	130.10 ³	18.10 ³
	CTT	0	22.10 ²	5.10 ²	8.10 ²	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	144.10 ⁵	180.10 ⁵	43.10 ⁵	50.10 ⁵	76.10 ⁵
Jijel	FTM	164.10 ⁶	7.10 ⁶	20.10 ⁶	25.10 ⁶	27.10 ⁶
	CT	48.10 ³	27.10 ³	22.10 ³	116.10 ³	9.10 ³
	CTT	7.10 ²	8.10 ²	62.10 ²	0	5.10 ²
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	56.10 ⁵	33.10 ⁵	88.10 ⁵	15.10 ⁵	92.10 ⁵
El-Aouana	FTM	144.10 ⁶	3.10 ⁶	33.10 ⁶	22.10 ⁶	14.10 ⁶
	CT	68.10 ³	10.10 ³	84.10 ³	0	11.10 ³
	CTT	10 ²	3.10 ²	2.10 ²	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	230.10 ⁵	29.10 ⁵	29.10 ⁵	29.10 ⁵	85.10 ⁵

Tableau N°19 : Résultats de l'analyse microbiologique du Lben.

Régions	Germes (G/ml)	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Taher	CT	28.10 ³	76.10 ³	44.10 ³	0	0
	CTT	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	90	31.10 ⁴	20.10 ⁴	32.10 ⁴	60.10 ⁴
Jijel	CT	84.10 ³	Abs	70.10 ³	25.10 ³	128.10 ³
	CTT	0	0	10.10 ²	0	57.10 ²
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	29.10 ⁴	75.10 ⁴	12.10 ⁴	66.10 ⁴	112.10 ⁴
El-Aouana	CT	23.10 ³	24.10 ³	17.10 ³	0	0
	CTT	0	0	3.10 ²	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	Levures et moisissures	22.10 ⁴	66.10 ⁴	84.10 ⁴	21.10 ⁴	152.10 ⁴

a. Résultats du dénombrement de la flore totale mésophile.

Après dénombrement de la flore totale dans les échantillons de lait cru, nous constatons que le nombre de cette flore varie d'une semaine à une autre et d'un lait à un autre. Il varie entre 11.10^6 G/ml et 63.10^6 G/ml pour les échantillons de la région de Taher, le nombre de germes retrouvés dans les échantillons de Jijel se situe entre 7.10^6 G/ml et 164.10^6 G/ml, de même pour le lait de la région d'El-Aouana, il varie entre 3.10^6 G/ml et 144.10^6 G/ml (Tableau N°20, Figure N°13).

Les résultats retrouvés lors du dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait cru analysés ne varient pas d'une manière significative ($p < 0,05$) selon les régions et au cours des semaines.

Ces résultats ne sont pas conformes à la norme de journal officiel de la république algérienne N°35 du 27 mai 1998 qui est de 10^5 G/ml pour un lait cru de qualité satisfaisante et acceptable.

En effet, cette augmentation de la charge microbienne est peut être liée au développement de la flore originelle à raison du non respect des conditions de réfrigération et du stockage ou à une contamination externe des équipements de traite et d'entreposage ou par manipulation (AIT ABDELWAHEB, 2001).

Tableau N°20 : Evolution du nombre de la flore totale du lait cru (G/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS
Taher	63.10^6	51.10^6	11.10^6	23.10^6	20.10^6	33.10^6	NS
Jijel	164.10^6	7.10^6	20.10^6	25.10^6	27.10^6	48.10^6	
El-Aouana	144.10^6	3.10^6	33.10^6	22.10^6	14.10^6	$43,2.10^6$	
SS	NS						

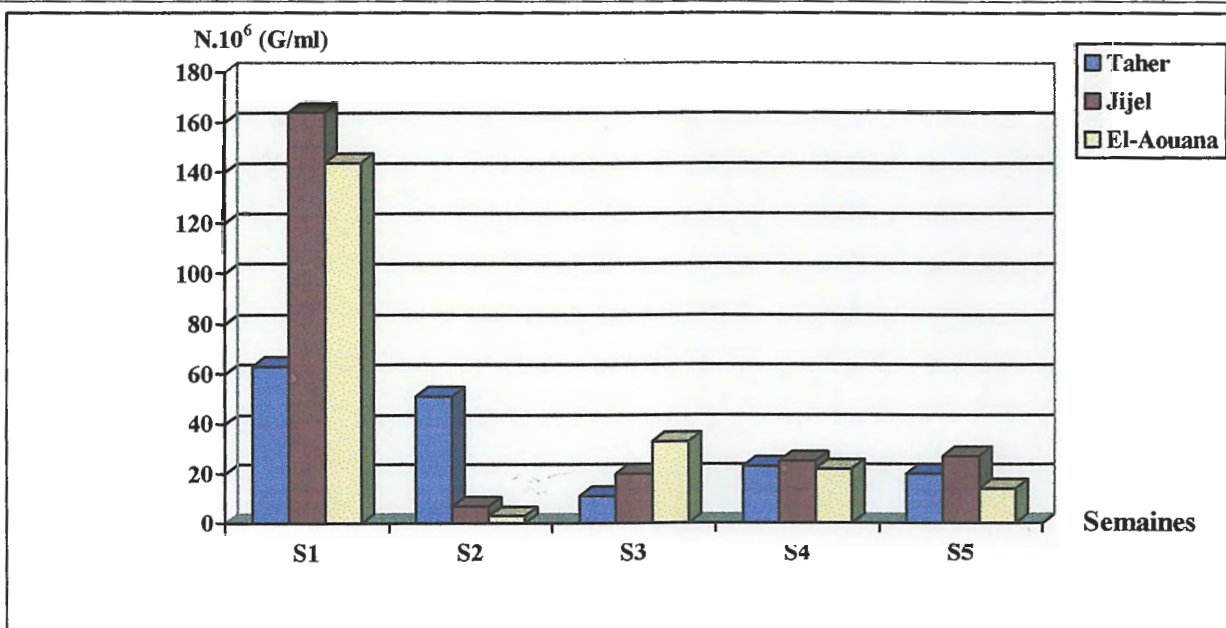


Figure N°13 : Evolution du nombre de la flore totale du lait cru.

b. Résultats du dénombrement des coliformes totaux.

Concernant les résultats du dénombrement des coliformes totaux du lait cru, nous remarquons que leur nombre varie entre 18.10^3 G/ml et 130.10^3 G/ml dans la région de Taher, ainsi des valeurs situées entre 9.10^3 G/ml et 116.10^3 G/ml pour la région de Jijel, 10.10^3 G/ml et 84.10^3 G/ml pour la région d'El-Aouana avec une absence totale au cours de la 4^{ème} semaine (Tableau N°21, Figure N°15).

Les résultats obtenus lors du dénombrement de cette flore ne varient pas d'une manière significative ($p < 0,05$) selon les régions et au cours du temps.

Toute fois, la comparaison de ces résultats avec celles retrouvés par HAMAMA et EL-MOKTAFI (1990) lors de leur étude sur la qualité hygiénique du lait cru produit en Maroc ($1,8.10^5$ G/ml) pour un lait fortement contaminé, on observe que nos résultats sont hautement inférieurs à cette moyenne.

La présence des coliformes dans le lait cru indique la mauvaise pratique d'hygiène lors de la traite : introduction des matières fécales dans le lait, utilisation de matériel contaminés ou au cours de la manipulation (BOURGOIS, 19991)

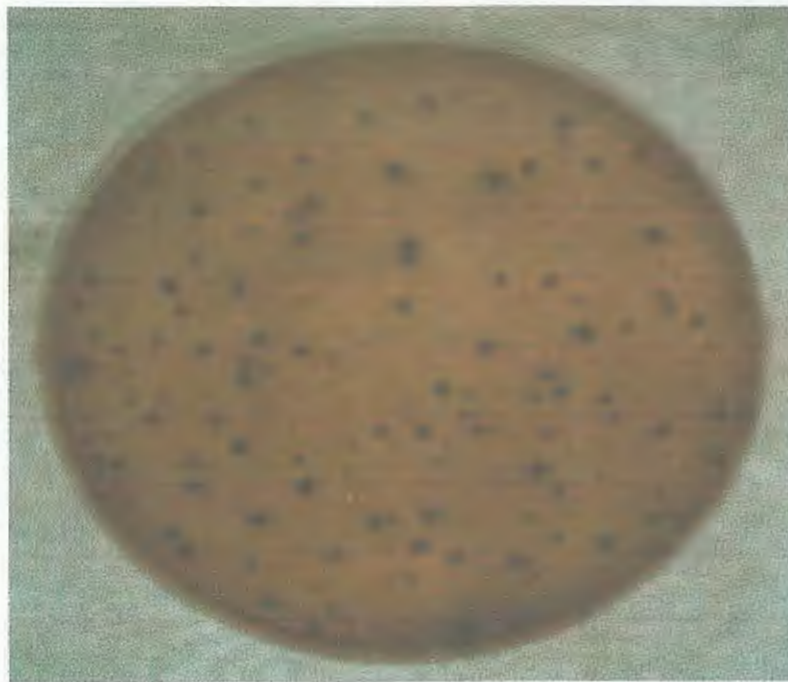


Figure N°14: Aspect des colonies de coliformes totaux.

Tableau N°21 : Evolution du nombre des coliformes totaux du lait cru (G/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS	
Taher	116.10 ³	25.10 ³	88.10 ³	130.10 ³	18.10 ³	75,4.10 ³	NS	
Jijel	48.10 ³	27.10 ³	22.10 ³	116.10 ³	9.10 ³	44,4.10 ³		
El-Aouana	68.10 ³	10.10 ³	84.10 ³	Absence	11.10 ³	34,6.10 ³		
SS	NS							

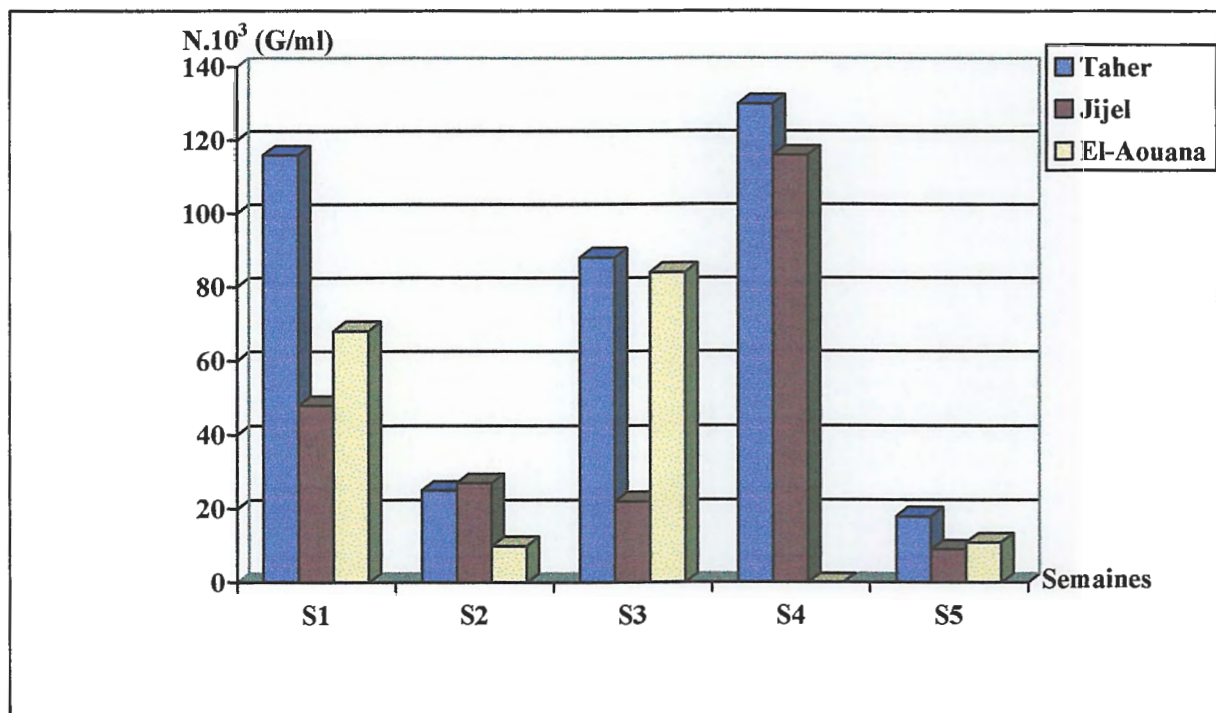


Figure N°15 : Evolution du nombre des coliformes totaux du lait cru.

En ce qui concerne le Lben, le nombre des coliformes totaux varie entre 28.10³ G/ml et 76.10³ G/ml dans la localité de Taher avec l'absence totale pendant les 2 dernières semaines, entre 25.10³ G/ml et 128.10³G/ml pour Jijel avec une absence lors de la 2^{ème} semaine et des valeurs relatives à la région d'El-Aouana se situent entre 17.10³ G/ml et 23.10³ G/ml avec une absence de ces germes enregistrée lors de la 2^{ème} semaine (Tableau N°22, Figure N°16).

Les résultats que nous avons retrouvés pour les coliformes sont relativement supérieurs à ceux retrouvés par HARRATI (1965) pour le Lben artisanal algérien (2.10³ G/ml).

Ce-ci pourrait s'expliquer soit par la teneur du lait de départ serait forte en micro-organisme soit par l'élaboration dans des mauvaises conditions d'hygiène de ce produit.

Par comparaison entre les résultats des deux types d'échantillons analysés on observe des valeurs des coliformes totaux du Lben hautement inférieur à celles du lait à raison de l'acidité et l'action antagoniste des bactéries lactiques agit en inhibant le développement de cette flore.

Tableau N°22 : Evolution du nombre des coliformes totaux du Lben (G/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M
Taher	28.10 ³	76.10 ³	44.10 ³	Absence	Absence	29.10 ³
Jijel	84.10 ³	Absence	70.10 ³	25.10 ³	128.10 ³	60,4.10 ³
El-Aouana	23.10 ³	24.10 ³	17.10 ³	Absence	Absence	12,8.10 ³

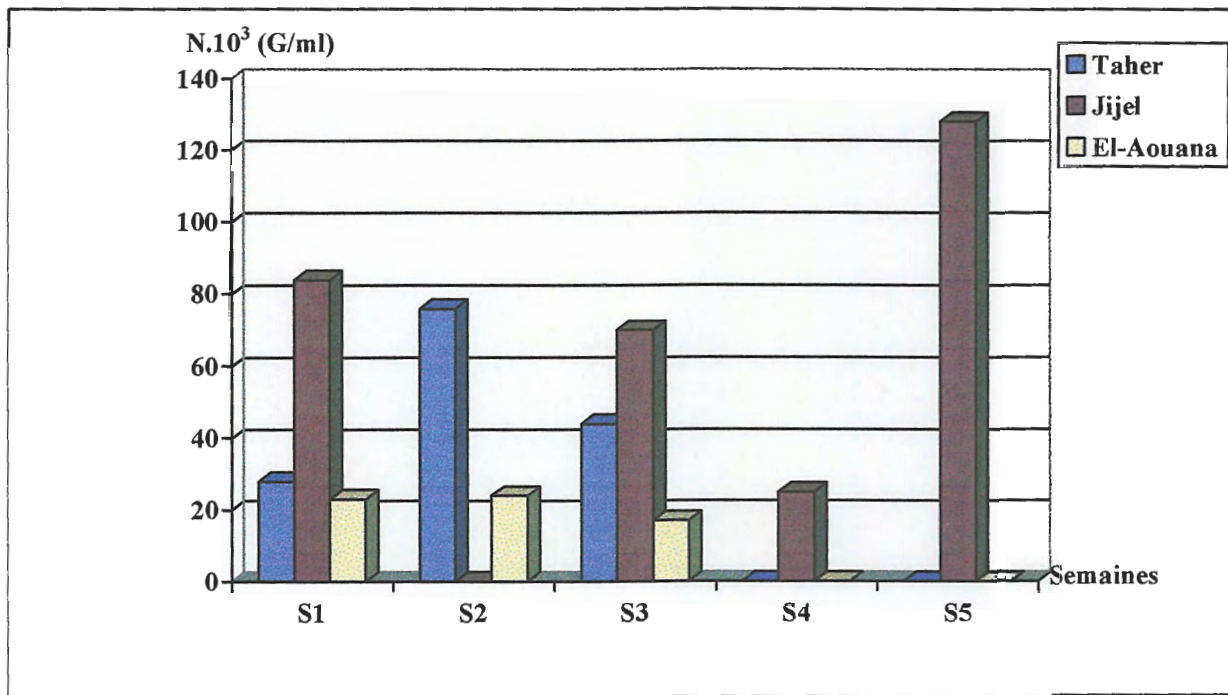


Figure N°16: Evolution du nombre des coliformes totaux du Lben.

c. Résultats de dénombrement des coliformes thermotolerants.

Le nombre des germes des coliformes thermotolerants retrouvés dans les échantillons du lait cru varie entre 0 G/ml et 22.10² G/ml pour la région de Taher, entre 0 G/ml et 22.10² G/ml pour la région de Jijel, entre 0 G/ml et 3.10² G/ml pour la région d'El-Aouana (Tableau N°23, Figure N°18).

Ces résultats sont conformes à la norme de journal officiel de la république algérienne N°35 qui est de 10³ G/ml ce qui indique que les laits sont de qualité satisfaisante. De plus nos résultats sont hautement inférieurs à ceux obtenus par HAMAMA et EL-MOUKTAFI (1990) qui sont en moyenne de 75.10³ G/ml.

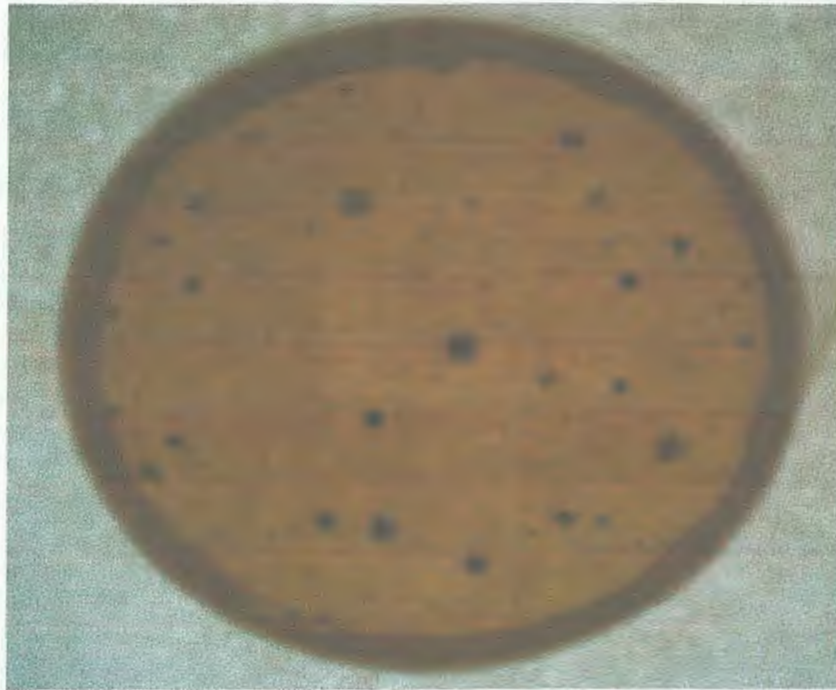


Figure N°17: Aspect des colonies de coliformes fécaux.

Tableau N°23: Evolution du nombre des coliformes fécaux du lait cru (G/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M
Taher	Absence	22.10 ²	5.10 ²	8.10 ²	Absence	7.10 ²
Jijel	7.10 ²	8.10 ²	62.10 ²	Absence	5.10 ²	16,4.10 ²
El-Aouana	10 ²	3.10 ²	2.10 ²	Absence	Absence	1,2.10 ²

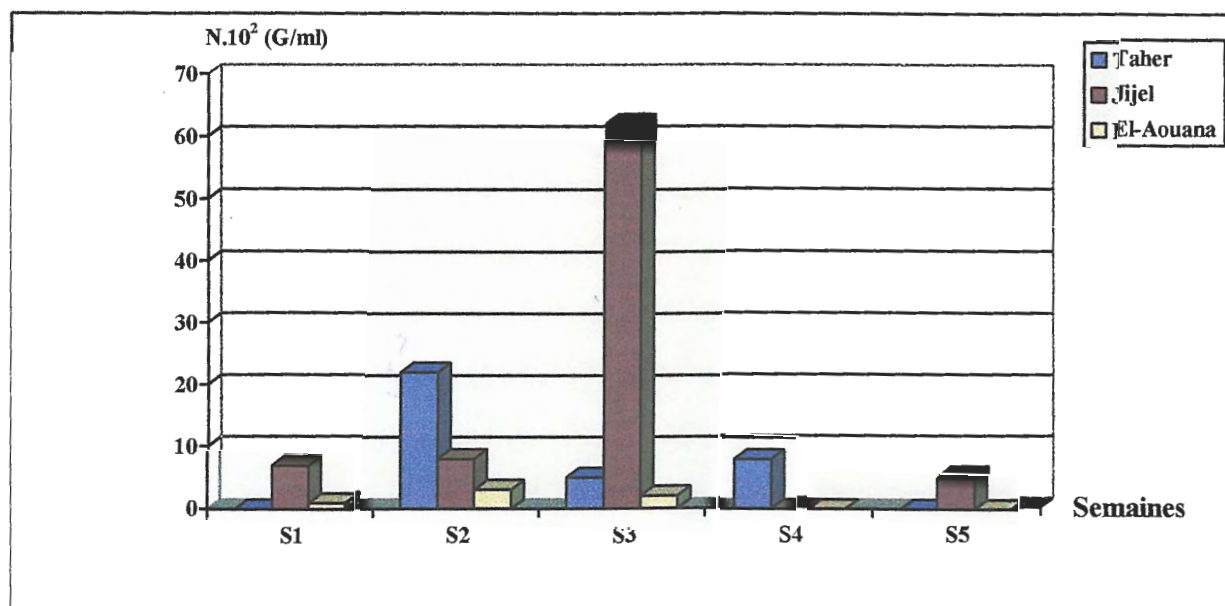


Figure N°18 : Evolution du nombre des coliformes fécaux du lait cru.

Les résultats, concernant le Lben, ont montré l'absence totale des coliformes fécaux dans la région de Taher, un nombre varie entre 3.10^2 G/ml et 57.10^2 G/ml dans les deux autres localités avec une absence de ces germes dans la plupart du temps. (Tableau N°19).

Après comparaison de ces résultats avec ceux relatives à une étude sur le Lben artisanal algérien effectuée par KECHA(1987) qui sont en moyenne de $4,88.10^2$ G/ml, nous constatons que nos résultats sont en majorité supérieurs à cette moyenne.

Le nombre de coliformes fécaux trop élevé est lié à une contamination fécale importante.

d. Résultats de la recherche et dénombrement des levures et moisissures.

Les résultats relatifs au dénombrement de cette flore, ont montré la présence d'un nombre important des levures et moisissures dans les laits cru et les Lben de trois régions (Tableau N°24, 25, Figure N°19, 22).

Tout les résultats sont variés de manières non significative ($p < 0,05$) pour l'ensemble des échantillons analysés au cours de notre travail.

Le nombre élevé de cette flore dans les laits crus analysés peut être due à une contamination externe de ces laits, soit au cours de la traite, du transport, de conditionnement ou au niveau de laboratoire.

Tableau N°24 : Evolution du nombre des levures et moisissures du lait cru (ufc/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS
Taher	114.10 ⁵	180.10 ⁵	43.10 ⁵	50.10 ⁵	76.10 ⁵	98,6.10 ⁵	NS
Jijel	56.10 ⁵	33.10 ⁵	88.10 ⁵	15.10 ⁵	92.10 ⁵	56,8.10 ⁵	
El-Aouana	230.10 ⁵	29.10 ⁵	29.10 ⁵	29.10 ⁵	85.10 ⁵	80,4.10 ⁵	
SS	NS						

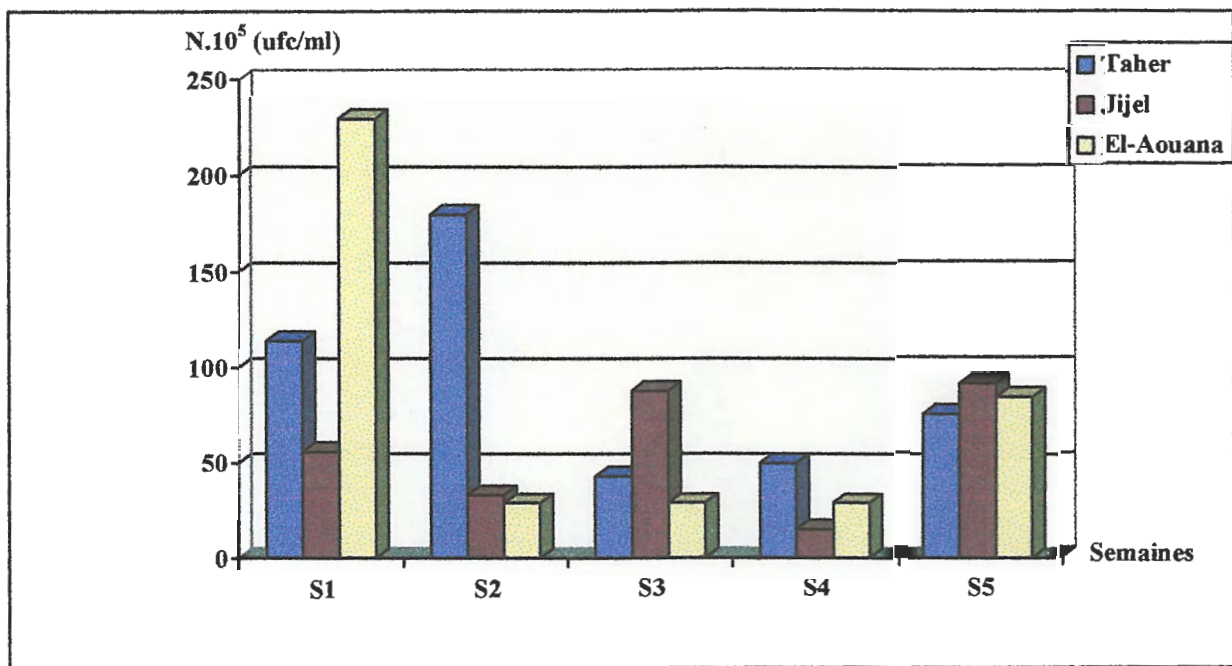


Figure N°19 : Evolution du nombre des levures et moisissures du lait cru.

Pour le Lben, les levures et les moisissures se trouvent en nombre très important vu leur caractère acidophile et leur faible sensibilité aux bactéries lactiques antagonistes. Nos résultats varient entre 12.10^4 ufc/ml et 132.10^4 G/ml, ils sont inférieurs à ceux retrouvés par HARRATI (1974) (512.10^6 ufc/ml) mais supérieurs à ceux retrouvés par TANTAOUI et *al.* (1987) ($8,5.10^2$ ufc/ml).



Figure N°20: Aspect des levures.



Figure N°21: Aspect des moisissures.

Tableau N°25 : Evolution du nombre des levures et moisissures du Lben (ufc/ml).

Semaines Régions	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	M	SS	
Taher	90.10 ⁴	31.10 ⁴	20.10 ⁴	32.10 ⁴	60.10 ⁴	46,6.10 ⁴	NS	
Jijel	29.10 ⁴	75.10 ⁴	12.10 ⁴	66.10 ⁴	112.10 ⁴	58,8.10 ⁴		
El-Aouana	22.10 ⁴	66.10 ⁴	84.10 ⁴	21.10 ⁴	132.10 ⁴	65.10 ⁴		
SS	NS							

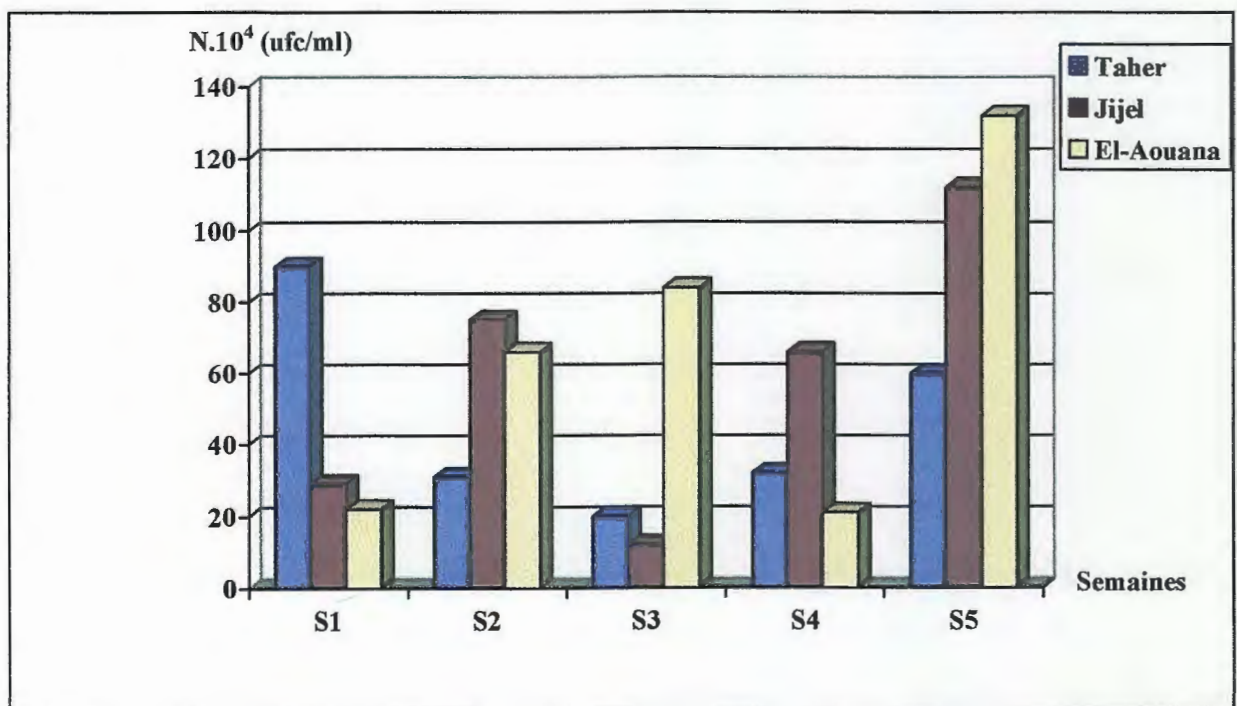


Figure N°22 : Evolution du nombre des levures et moisissures du Lben.

e. Résultats de la recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfitoréducteurs, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et Streptocoques fécaux.

Les Salmonelles, les *Staphylococcus aureus* et les *Clostridium* sulfitoréducteurs particulièrement redoutables en alimentation humaine n'ont été trouvés dans aucun échantillon analysé (Tableau N°18, 19).

L'absence de ces germes peut être liée également à l'action antagoniste des bactéries lactiques du Lben qui constitue un mauvais milieu de culture pour les bactéries pathogènes essentiellement à cause de son pH acide (4,2) et de son acidité élevée (82°D) (MARTH, 1969), (RADISH et al., 1969), (SORRELS et al., 1970).

La recherche de Streptocoque fécaux a révélé ainsi l'absence totale de ces germes pour les deux produits analysés.

III-2-2. Résultats d'identification des souches.

L'analyse microbiologique du 30 échantillons de lait cru et du Lben prélevés de différents régions de la wilaya de Jijel, a permis l'isolement et l'identification de 22 souches bactériennes représentés par 12 souches d'*Escherichia coli* et 10 souches de Streptocoques dont une souche est hémolytique.

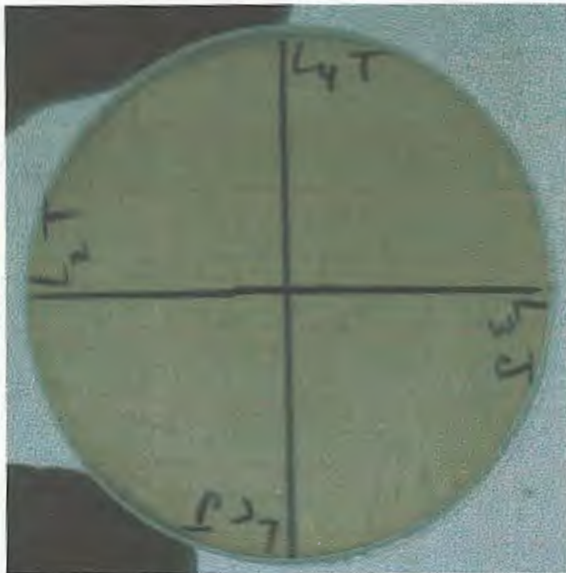


Figure N° 23: Aspect des colonies de Streptocoques.

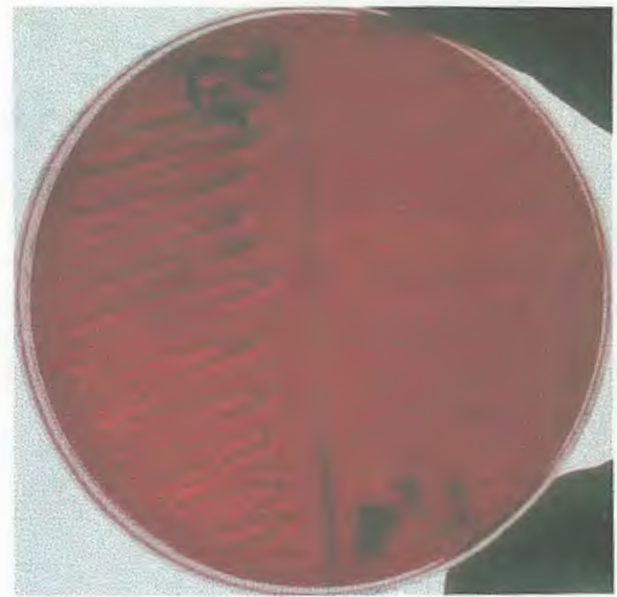


Figure N°24: Résultats du test de l'hémolyse de Streptocoques.

Les résultats d'identification des Entérobactéries sont représentés dans le tableau N°26 et illustrés par la figure N°25.

Tableau N°26 : Résultats de la mini-galerie biochimique.

Souches	Lac	Sac	Glu	H ₂ S	Man/ mob	Gaz	ODC	LDC	ADH	Urée/ indole	Nit	Espèce
1	+	+	+	-	+/+	+	+	+	-	-/+	+	<i>E.coli</i>
2	+	+	+	-	+/+	+	+	-	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
3	+	+	+	-	+/+	+	+	-	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
4	+	+	+	-	+/+	+	+	-	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
5	+	+	+	-	+/+	+	+	+	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
6	+	+	+	-	+/+	+	+	+	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
7	+	+	+	-	+/+	+	+	+	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
8	+	+	+	-	+/+	+	+	-	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
9	+	+	+	-	+/+	+	+	+	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
10	+	+	+	-	+/+	+	+	-	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
11	+	+	+	-	+/+	+	+	+	+	-/+	+	<i>E.coli</i>
12	+	+	+	-	+/+	+	+	+	-	-/+	+	<i>E.coli</i>

+ : Réaction positive

- : Réaction négative.



Figure N°25: Résultats de la mini-galerie biochimique pour *E.coli*.

III-3. Résultats du test de la sensibilité des souches aux antibiotiques.

III-3-1. Résultats de la sensibilité d'*Escherichia coli*.

L'étude de la sensibilité des souches isolées et identifiées a révélé que 70% des souches d'*Escherichia coli* sont résistantes à l'Ampicilline, 20% à l'Amoxiciline, 80% à la Streptomycine. Cependant elle est sensible à 100% au Tétracycline d'où l'efficacité de ce dernier est démontrée (Tableau N°28, Figure N°27).

Ces résultats sont en accord avec ceux de MEUNIER et *al.* (2004), DAVID et *al.* (2004) et KATHRYN et *al.* (2003)

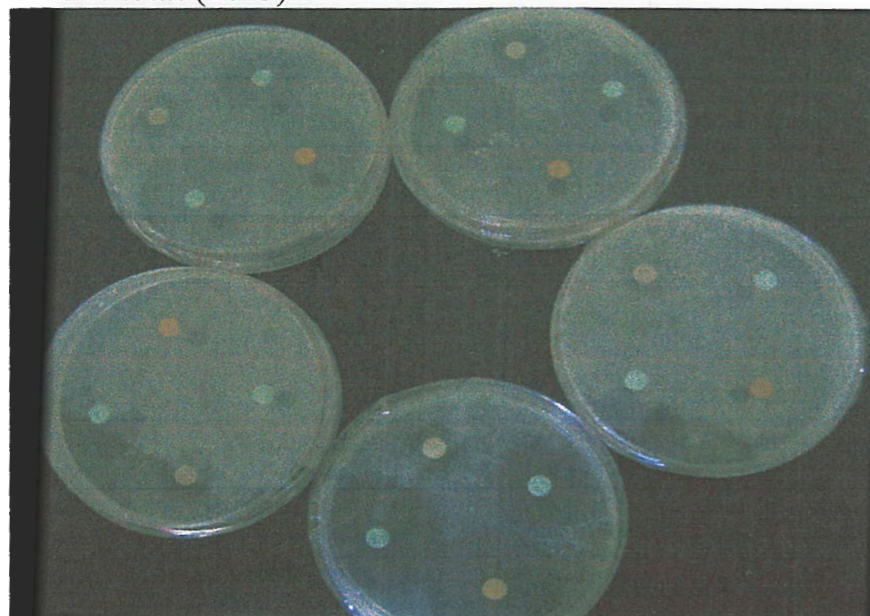


Figure N°26 : Résultats de l'antibiogramme pour *E.coli*.

Tableau N°27 : Résultats de l'antibiogramme pour *E.coli*.

Souche	AM	AMX	S	TE
1	R	S	R	S
2	S	S	S	S
3	R	S	R	S
4	R	S	R	S
5	R	R	R	S
6	S	S	S	S
7	R	S	R	S
8	S	S	R	S
9	R	R	R	S
10	R	S	R	S

R : Résistante

S : Sensible

Tableau N°28: résultats de test de sensibilité pour *E.coli*.

Antibiotiques	Pourcentage des souches sensibles	Pourcentage des souches résistantes
AM	30%	70%
AMX	80%	20%
S	20%	80%
TE	100%	0%

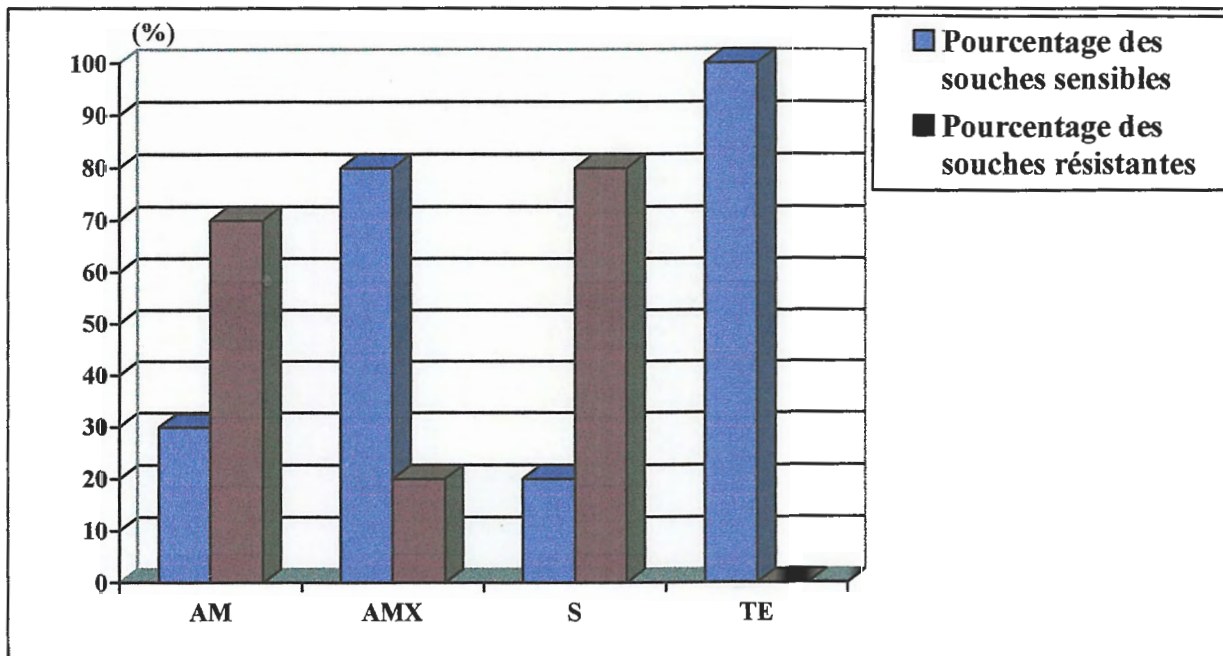


Figure N°27 : Effets des antibiotiques sur les 10 souches d'*E.coli* isolées.

III-3-2. Résultats de la sensibilité de Streptocoques.

Les résultats de la sensibilité des 10 souches de Streptocoques a montré la sensibilité de ces souches à l'Amoxicilline et l'Ampicilline à 100%. Mais, elles sont résistantes au Streptomycine à 100% et au Tetracycline à 90% (Tableau N°30, Figure N°29).

En effet, les souches résistantes peuvent être à l'origine des problèmes sanitaires humaines. L'apparition de la résistance pourrait être liée à l'utilisation non contrôlée et abusive des antibiotiques lors du traitement des mammites ou de différentes pathologies infectieuses des bovins ou à l'utilisation de antibiotiques comme additif alimentaire stimulant la croissance des bovins.

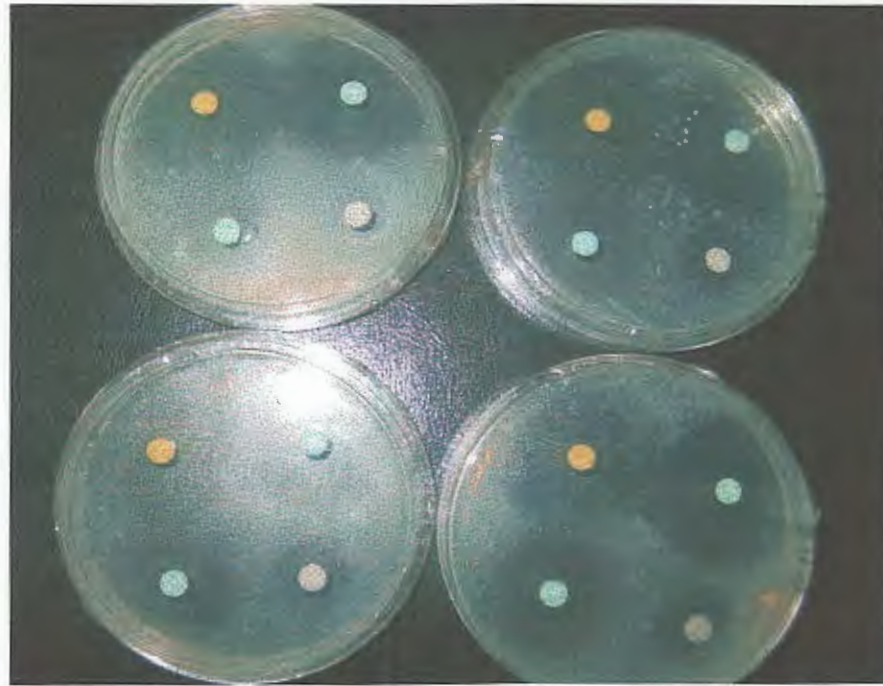


Figure N°28 : Résultats de l'antibiogramme pour les Streptocoques.

Tableau N°29 : Résultats de l'antibiogramme de Streptocoques.

Souche	AM	AMX	S	TE
1	S	S	R	R
2	S	S	R	R
3	S	S	R	R
4	S	S	R	R
5	S	S	R	R
6	S	S	R	R
7	S	S	R	R
8	S	S	R	S
9	S	S	R	R
10	S	S	R	R

Tableau N°30 : Résultats de test de sensibilité de Streptocoques.

Antibiotique	Pourcentage des souches sensibles	Pourcentage des souches résistantes
AM	100%	0%
AMX	100%	0%
S	0%	100%
TE	10%	90%

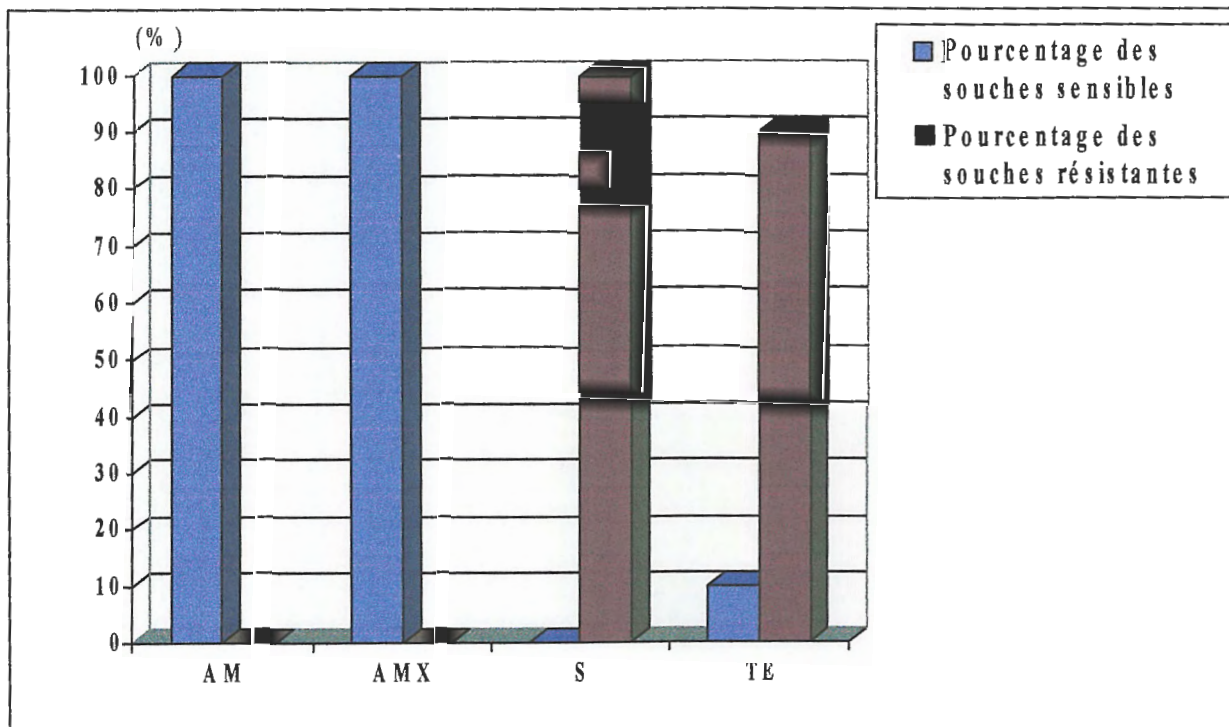


Figure N°29 : Effet des antibiotiques sur les 10 souches de Streptocoques isolées.



Conclusion

Conclusion

Au cours de notre travail, nous avons essayé d'estimer la qualité microbiologique et physico-chimique du lait cru et du Lben artisanal prélevés de trois localités de la wilaya de Jijel.

Les résultats aux quels nous avons abouti nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

L'étude des paramètres physico-chimiques a montré que le pH des deux produits analysés lait cru et Lben était presque conforme à la norme et varie respectivement entre 6,38 – 6,90 et 4,81 – 4,90 en moyenne. Aussi on a remarqué que l'acidité lactique du lait cru était conforme au norme pour la région de Taher (16,8°D) et légèrement supérieur à la norme pour les deux autres régions (18,8°D). Par ailleurs, les résultats relatives a celle du Lben ont révélé que ce dernier a une acidité variable entre 82°D et 89°D.

En ce qui concerne la matière sèche, l'ensemble des échantillons de lait a des valeurs très inférieures aux normes. Ceux du Lben ont des valeurs tous conformes aux normes (62 g/l).

Pour la matière minérale on a noté que la plupart des valeurs sont inférieurs à la norme pour les deux produits.

Les analyses microbiologiques ont montré que le lait cru a été fortement contaminé par une flore totale mésophile estimé par 33.10^6 G/ml à 48.10^6 G/ml , une flore de contamination fécale (CT et CTT) variante entre 10^2 G/ml et 130.10^3 G/ml.

De même, le Lben analysé est contaminé par un nombre de coliformes variant entre 3.10^2 à 128.10^2 G/ml, une absence de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, Streptocoques fécaux a été révélé pour chaque échantillon examiné pendant toute la durée d'étude.

Les levures et moisissures dénombrées dans les deux produits ont été trouvé en nombre très important pour les trois régions.

Les résultats du test de sensibilité des souches isolées ont révélé que les souches d'*E.coli* sont très résistantes vis-à-vis d'Ampicilline et Streptomycine et sensible vis-à-vis d'Amoxicilline et Tetracycline. Les souches de Streptocoques sont sensibles vis-à-vis d'Amoxicilline et Ampicilline, et résistante vis-à-vis de Streptomycine et Tetracycline. La résistance pourrait être liée à l'utilisation anarchique des antibiotiques.

Compte tenu les résultats obtenus dans cette étude, il est fortement recommandable, pour améliorer la qualité hygiénique de lait cru et par conséquent celle des produits dérivés (Lben), d'encourager les producteurs et les vendeurs à prêter plus d'attention aux aspects hygiéniques de la traite, de la conservation, et du transport.

Au niveau des points de ventes, le contrôle quotidien des températures de réfrigération, le nettoyage et la désinfection régulière des bacs de réfrigération sont des pratiques qui doivent être rigoureusement respectés pour réduire les multiplications microbiennes dans le lait.



Annexes

Annexe I

Milieux de culture

Eau physiologique stérile à 9%

- NaCl	9g
- Eau distillé	1000 ml

Bouillon au sélénite de sodium (SFB)

- Peptone	5g
- Lactose	4g
- Phosphate disodique	10g
- Sélénite acide de sodium	4g
pH = 7	

Milieu de Rothe

- Peptone	20g
- Glucose	5g
- Chlorure de sodium	5g
- Phosphate mono potassique	2,7g
- Phosphate bipotassique	2,7g
- Acide de sodium	0,2g
pH = 7	

Giolitti et cantoni

- Tryptone	10g
- Extrait de viande	5g
- Extrait de levure	5g
- Chlorure de lithium	5g
- Mannitol	20g
- Chlorure de sodium	5g
- Glycine	1,2g
- Pyruvate de sodium	3g
pH : 6,9	

Bouillon EVA-Litsky (Bouillon à l'azide et à l'éthyl-violet)

- Peptone	20g
- Glucose	5g
- Chlorure de sodium	5g
- Phosphate dipotassique	2,7g
- Phosphate monopotassique	2,7g
- Azide de sodium	0,3g
- Ethyl-violet	0,5g
- pH = 7	

Gélose PCA (plate count agar)

- Peptone	5g
- Extrait de levure	2,5g
- Glucose	1g
- Gélose	15g

- pH = 7,2

Gélose au désoxycholate 0,1%

- Peptone	10g
- Lactose	10g
- Citrate de sodium	1g
- Citrate de fer III	1g
- Désoxycholate de sodium	5g
- Rouge neutre	25 mg
- Extrait de viande	5g
- Gélose	17g
- pH = 7,3	

Milieu OGA (gélose oxytétracycline-glucose)

- Extrait de levure	5g
- Glucose	20g
- Gélose	16g
- pH = 7	

Gélose VF (viande-foie)

- Extrait viande-foie	30g
- Glucose	2g
- Amidon	2g
- Gélose	12g
- pH = 7,6	

Gélose nutritive

- Peptone	10g
- Extrait de viande	5g
- Chlorure de sodium	5g
- Gélose	15g
- pH = 7,2	

Hektoen

- Protéose – peptone	12g
- Extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Thiosulfate de sodium	5g
- Sels biliaires	9g
- Citrate de fer ammoniacal	1,5g
- Salicine	2g
- Lactose	12g
- Saccharose	12g
- Fushine acide	0,1g
- Bleu de bromothymol	65mg
- Gélose	13mg
- pH = 7,6	

Baird – Parker

- Trypton	10g
- Extrait de viande	30g
- Extrait de levure	10g
- Glucose	20g
- pH = 7,2	

Mueller – Hinton

- Extrait de viande	2g
- Hydrolysate acide de caséine	17,5g
- Amidon	1,5g
- Gélose	10g

TSI (triple sugar-iron agar)

- Peptone	20g
- Extrait de viande	3g
- Extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Glucose	1g
- Lactose	10g
- Saccharose	10g
- Citrate de fer	0,5g
- Hyposulfite de sodium	0,5g
- Rouge de phénol	25mg
- Gélose	12g
- pH = 7,4	

Mannitol - mobilité

- Peptone	20g
- Nitrate de potassium	1g
- Mannitol	2g
- Rouge de phénol	40mg
- Gélose	4g
- pH = 8,1	

ODC :

- Ornithine (L)	5g
- Extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Glucose	1g
- Pourpre de bromocrésol	16mg
- pH = 6,3	

ADH

- L'arginine	5g
- Extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Glucose	1g
- Pourpre de bromocrésol	16mg

- pH = 6,3

LDC

- Lysine	5g
- Extrait de levure	3g
- Glucose	1g
- Chlorure de sodium	5g
- Pourpre de bromocrésol	16mg
- pH = 6,3	

Urée – Indole

- Tryptophane	3g
- Phosphate monopotassique	1g
- Phosphate bipotassique	1g
- Chlorure de sodium	5g
- Urée	20g
- Alcool à 95°	10ml
- Rouge de phénol	25mg
- pH = 6,7	

Réactifs et colorants**KOVAX**

- Paradiméthyle – Amino – Benzalde	1g
- Alcool amylique	15g
- Acide chlorhydrique	5ml

Phénol phtaléine

- Phénol	1g
- Alcool	100g

Solution d'hydroxyde de sodium (N/g)

- Hydroxyde de sodium	4,4g
- Eau distillée	100g

Fushine

- Fushine basique	1g
- Alcool éthylique à 90°	10ml
- Phénol	5g
- Eau distillée	100 ml

Lugol

- Iode	1g
- Iodure de potassium	2g
- Eau distillée	300 ml

Violet de gentiane

- Violet de gentiane	1g
- Ethanol à 90%	10ml
- Phénol	2g
- Eau distillée	100ml

Annexe II

Antibiogramme: interprétation des zones d'inhibition.

		ANTIBIOTIQUE			Concentration critique µg/ml	Diamètre des zones				
		Dénomination commune	Code	Charge µg/ml		R	I	S		
B-lactamines	Pénicillines	G	Pénicilline G	P	6	0.25-16	<8	8-28	≥29	
		A	Ampicilline	AM	10	4-16	<11	11-16	≥17	
			Amoxicilline	AMX	25	4-16	<14	14-20	≥21	
			Amoxicilline+ A. clavulanique	AMP	20	4-16	<14	14-20	≥21	
			Carbénacilline	CB	100	128	<15		≥15	
			Ticarcilline	TIC	75	128	<13		≥13	
			Aziocilline	AZ	75	16-128	<10	10-18	≥19	
			Mézlocilline	MZ	75	8-32	<16	16-20	≥21	
			Pipéracilline	PIP	100	16-128	<13	13-19	≥20	
		Mecillinam	MEC	25	1-8	<17	17-22	≥23		
	M	Méticilline	DP	5	2	<20	12-17	≥20		
		Oxacilline	OX	5	2	<20	12-17	≥20		
	Céphalosporines	I	Cefalotine	CF	30	8-32	<12	12-17	≥18	
			Cefaloridine	CD	30	8-32	<12	12-17	≥18	
			Cefalexine	CN	30	8-32	<12	15-21	≥18	
			Cefazoline	CZ	30	8-32	<12	15-21	≥18	
		II	Cefoxitine	FOX	30	8-32	<15	15-21	≥22	
			Cefamandole	MA	30	8-32	<15	15-20	≥22	
			Cefuroxime	CXM	30	8-32	<15	15-20	≥22	
		III	Cefotaxime	CTX	30	4-32	<15	14-20	≥21	
			Ceftriaxone	CRO	30	4-32	<15	14-21	≥21	
			Cefopérazone	CFP	30	4-32	<14	17-22	≥21	
			Cefsulodine	CFS	30	8-32	<14	15-20	≥22	
			Moxalactam	MOX	30	4-32	<17	15-16	≥23	
				Ceftardime	CAZ	30	4-32	<15	15-16	≥21
		Aminosides	Streptomycine	S	10UI	8-16	<13	13-14	≥15	
			Gentamycine	GM	10	4-8	<14	14-15	≥16	
			Tobramycine	NN	10	4-8	<14	14-15	≥16	
Sixomycine			SIS	10	4-8	<14	14-15	≥16		
Dibekamycine			DKB	10	4-8	<14	14-15	≥16		
Amikacine	AN		30	8-16	<15	15-16	≥17			
Netilmycine	NET		30	4-8	<17	17-18	≥19			
Kanamycine	K		30	8-16	<15	15-16	≥17			
Néomycine	N		30	8-16	<15	15-16	≥17			
Paromomycine	PAR		30	8-16	<15	15-16	≥17			
Phénicolés	Chloramphenicol	C	30	8-16	<19	19-22	≥23			
	Thiamphenicol	TP	30	8-16	<19	19-22	≥23			
Tétracycline	Tétracycline	TE	30	4-8	<17	17-18	≥19			
	Oxytétracycline	OT	30	4-8	<17	17-18	≥19			
	Doxycycline	D	30	4-8	<17	17-18	≥19			
	Minocycline	ML	30	4-8	<17	17-18	≥19			

Macrolides	Vrais	Erythromycine	E	15	1-4	<17	17-21	≥22
		Oléandomycine	OL	15	1-4	<17	17-21	≥22
		Spiramycine	SP	100	2-8	<16	16-21	≥22
	Apparentés	Linomycine	L	15	2-8	<17	17-20	≥21
		Clindamycine	CC	2	2	<15		≥15
		Virginiamycine	SA	15	2	<19		≥19
		Pristinamycine	PR	15	2	<19		≥19
Polypeptides	Bacitracine	B	10	2	<15		≥15	
	Polymyxine	PB	300	2	<15		≥15	
	Colistine	CL	250	2	<8	8-10	≥11	
Nitrofuranes	Furane	FM	20		<14	14-16	≥17	
Sulfamides	Sulfamide	G	30	100-350	<12	12-16	≥17	
	Trimethoprime-Sulfamides	SXT	20	2-8	<10	10-16	≥15	
Quinolones	A.nalidixique	NA	30	8-16	<15	15-10	≥20	
	A.pipémidique	PI	20	8-16	<14	14-10	≥19	
	Pefloxacine	PEF	5	1-4	<16	16-21	≥22	
Rifamycines	Rifampicine	RA	30	4-16	<14	14-18	≥19	
Divers	A.fusidique	FA	10	2-16	<15	15-21	≥22	
	Nitroxoline	NI	20	8-16	<17	17-18	≥19	
	Fosfomycine	FFL	50	32	<14		≥14	
	Novobiocine	NB	30	2-16	<16	16-22	≥23	
	Vancomycine	VA	30	20	<11		≥11	

Annexe III

Analyse statistique

Loi de Kruskal – Wallis

$$H_{cal} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

H_{cal} : Indice de Kruskal - Wallis calculé.

N : Nombre total d'observation.

n_j : Nombre de valeurs de la colonne.

R_j : La somme des rang pour chaque colonne.

L'analyse statistique de nos résultats est réalisée avec une probabilité $\alpha = 0,05$ et un degré de liberté (d.d.l) variable.

d.d.l = nombre de colonne – 1.

Pour l'effet du temps, le tableau de calcul est composé par 5 colonnes représentant les 5 semaines et 3 rangs représentant les régions.

Donc : d.d.l = 5 – 1 = 4.

Pour l'effet du région, le tableau est constitué par trois colonnes représentant les 3 régions et 5 rangs représentant les semaines.

Donc : d.d.l = 3 – 1 = 2.

Etapes de calcul.

Les étapes de l'analyse statistique de nos résultats sont les suivantes :

- Classer les valeurs observées ($N = 15$) par ordre croissant.
- Remplacer les valeurs du tableau par leur rang.
- Calculer l'indice de Kruskal-Wallis (H_{cal}) selon la loi précédente.
- Comparer le H_{cal} avec la valeur correspond de la table de Khi-deux :

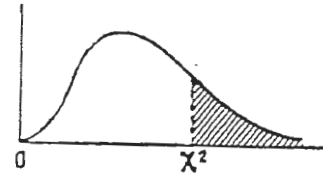
$H_{Tab}(\alpha=0,05, \text{d.d.l})$.

Si : $H_{cal} \leq H_{Tab}$: Le facteur étudié (temps ou régions) n'influence pas les résultats.

Si : $H_{cal} > H_{Tab}$: Le facteur étudié influence les résultats, donc il y a des variations significatives.

Table de la loi du χ^2

La table donne la probabilité α pour que χ^2 égale ou dépasse une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).



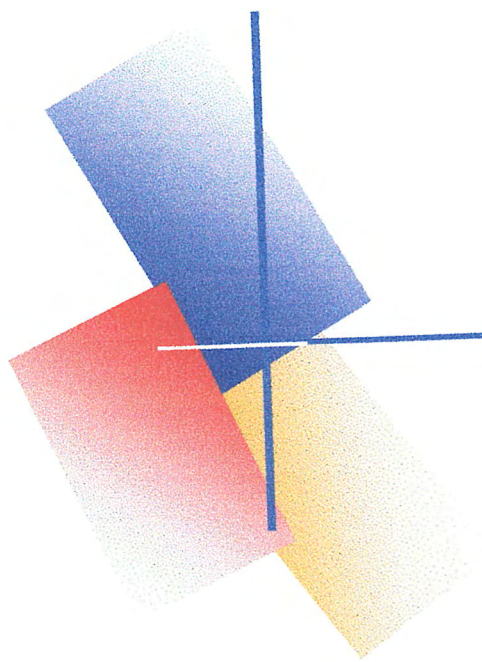
α d.d.l.	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,0158	0,455	1,074	1,642	2,706	3,841	5,412	6,635	10,827
2	0,211	1,386	2,408	3,219	4,605	5,991	7,824	9,210	13,815
3	0,584	2,366	3,665	4,642	6,251	7,815	9,837	11,345	16,266
4	1,064	3,357	4,878	5,989	7,779	9,488	11,668	13,277	18,467
5	1,610	4,351	6,064	7,289	9,236	11,070	13,388	15,086	20,515
6	2,204	5,348	7,231	8,558	10,645	12,592	15,033	16,812	22,457
7	2,833	6,346	8,383	9,803	12,017	14,067	16,622	18,475	24,322
8	3,490	7,344	9,524	11,030	13,362	15,507	18,168	20,090	26,125
9	4,168	8,343	10,656	12,242	14,684	16,919	19,679	21,666	27,877
10	4,865	9,342	11,781	13,442	15,987	18,307	21,161	23,209	29,588
11	5,578	10,341	12,899	14,631	17,275	19,675	22,618	24,725	31,264
12	6,304	11,340	14,011	15,812	18,549	21,026	24,054	26,217	32,909
13	7,042	12,340	15,119	16,985	19,812	22,362	25,472	27,688	34,528
14	7,790	13,339	16,222	18,151	21,064	23,685	26,873	29,141	36,123
15	8,547	14,339	17,322	19,311	22,307	24,996	28,259	30,578	37,697
16	9,312	15,338	18,418	20,465	23,542	26,296	29,633	32,000	39,252
17	10,085	16,338	19,511	21,615	24,769	27,587	30,995	33,409	40,790
18	10,865	17,338	20,601	22,760	25,989	28,869	32,346	34,805	42,312
19	11,651	18,338	21,689	23,900	27,204	30,144	33,687	36,191	43,820
20	12,443	19,337	22,775	25,038	28,412	31,410	35,020	37,566	45,315
21	13,240	20,337	23,858	26,171	29,615	32,671	36,343	38,932	46,797
22	14,041	21,337	24,939	27,301	30,813	33,924	37,659	40,289	48,268
23	14,848	22,337	26,018	28,429	32,007	35,172	38,968	41,638	49,728
24	15,659	23,337	27,096	29,553	33,196	36,415	40,270	42,980	51,179
25	16,473	24,337	28,172	30,675	34,382	37,652	41,566	44,314	52,620
26	17,292	25,336	29,246	31,795	35,563	38,885	42,856	45,642	54,052
27	18,114	26,336	30,319	32,912	36,741	40,113	44,140	46,963	55,476
28	18,939	27,336	31,391	34,027	37,916	41,337	45,419	48,278	56,893
29	19,768	28,336	32,461	35,139	39,087	42,557	46,693	49,588	58,302
30	20,599	29,336	33,530	36,250	40,256	43,773	47,962	50,892	59,703

Exemple : pour $ddl = 1$ et $\alpha = 0,05$, on a $\chi^2 = 3,841$.

Quand $ddl > 30$, χ^2 est distribué à peu près normalement autour de ddl avec une variance égale à $2 ddl$.



*Références
bibliographiques*



Références bibliographiques

- 1- ADRIAN J., POTUS J., POIFFAIT A. et DAUVILLIER P., 1998. Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Ed. TEC. et DOC. Lavoisier, Paris, P.24.
- 2- AIT ABDELWAHEB N., 2001. Microbiologie alimentaire. Ed. Office des publications universitaires, Alger, pp. 41-58.
- 3- BEN AMOR K., CORNELIENS C., MAHJOUB A. et THONART P., 1989. Identification de la flore lactique du lait fermenté traditionnel tunisien. Ed. Association africaine de microbiologie et d'hygiène alimentaire, Sousse, Tunisie, pp. 54-55.
- 4- BOUDHAIMI H., 2002. Stratégies des entreprises des transformations de lait sur le marché de la collecte. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Agroéconomie, pp. 80-82.
- 5- BOURGOIS C.M. et LEUVEAU J.Y., 1991. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol. 3. TEC et DOC., Lavoisier, pp. 140-308.
- 6- BRUGERE-PICOUX J., 2004. Maladies de mouton. Ed. France Agricole, pp.58-205.
- 7- CARBONELLE B. et DENIS F., 1987. Bactériologie médicale : technique nouvelles, Ed. SIMEPSA., Paris (France), p. 237.
- 8- DEBRY G., 2001. lait : nutrition et santé. Ed. TEC et DOC. Lavoisier, Paris, pp.4-34.
- 9- EBERLIN T., 1994. Les antibiotiques : classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Ed. NATHAN, Paris, pp. 9-46.
- 10- FAO, 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Département de l'agriculture, pp. 10-71
- 11- FAO, 2003. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Département de l'agriculture, pp. 31-40.
- 12- FAROULT., 2000. Maladies des bovins. Ed. France Agriculture, pp. 64-72.
- 13- GUIRAUD J.P. et GALZY P., 1980. L'analyse microbienne dans les industries alimentaires. Ed. L'usine nouvelle, Paris, p. 92.
- 14- GUIRAUD J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris, pp. 94-308.
- 15- GUIRAUD J.P., 2003. Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris, pp.138- 391.

- 16- HARRATI E., 1974. Recherche sur Lben et le Klila Algériens. Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle. INA. EL Harrach.
- 17- HESKIA B., 1979. Le plan de GTV de lutte contre les mammites. SOC. Vet. et Med. Comparée, Lyon, pp. 13-18.
- 18- JACKUET J. et VEISSEYRE R., 1978. Lait matière première de l'industrie laitière, pp. 21-215.
- 19- JOFFIN C. et JOFFIN J-N., 1999. Microbiologie alimentaire. 5^{ème} ed. CR. de DOC. PED. d'AQU., Bordeaux, pp. 122-146.
- 20- Journal officiel de la république algérienne N°35 du 27 mai 1998.
- 21- KATHRYN A., 2004. Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* form dairy cattle associated with recent multiresistant Salmonellosis out breaks. Ed. Washington university, pp. 55- 57.
- 22- KECHA M., 1987. Contribution à l'étude de physico-chimie et microbiologique du Lben artisanal fabriqué à Constantine. Mémoire d'Ingénieur d'état en I.N.A.T.A.A. Université de Constantine, p. 35.
- 23- KEZZAL K., 1993. Les antibiotiques. Ed. Office des publications universitaires, Alger, pp. 28- 36.
- 24- KIM H., HARDY J., MUVAK G., PRAM J. et WEBER W., 1982. Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Ed. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, ROME, pp. 1-7.
- 25- LARPENT J.P., 1997. Microbiologie alimentaire:Technique de laboratoire. Ed. TEC. et DOC. Lavoisier, Paris, p. 704.
- 26- LEGRAS B., 1998. Eléments de statistique. Ed. ELLEPSES, Paris, p. 212.
- 27- LUQUET F.M., 1981. Lait et produits industriels laitiers. Tome 2. Ed. TEC. et DOC. Lavoisier, Paris, pp. 3-53.
- 28- LUQUET F-M., 1990. lait et produits industriels laitiers:Vaches, brebis, chères. 2^{ème} Ed. TEC. et DOC. Lavoisier, Paris, pp:3-37.
- 29- MAHAUT M., JEAUTET R., SCHVEK P. et BRULE G., 2000. Les produits industriels laitiers. Ed. TEC et DOC. Lavoisier, Paris, pp. 2-9.
- 30- MARTH E.H., 1969. Salmonella and Salmonellosis associated with milk products. J. Dairy Sci, p. 283.

- 31- MULTON J-L., 1991. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol.1. Ed. TEC. et DOC. Lavoisier, Paris. pp. 105-106
- 32- SEYFFARTH H., 2005. Les laits fermentés du monde. Ed. Safari nutrition. Durban, Afrique du sud. pp. 11-17
- 33- SIMON D., FANSOIS M. et DUDEZ P., 2002. Transformer les produits laitiers frais à la ferme. Ed. Educagri, p. 42.
- 34- SORRELS M.M et SPECK M.L., 1970. Inhibition of Salmonella gallirarun by filtrate of Leuconostoc citrovorum. J. Dairy. Sci., p. 239.
- 35- TANTAOUI E. et EL MARRAKCHI A., 1987. Study of maroccan dairy products: Lben and Smen. Ed. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 3, pp. 211-220.
- 36- TRIMOLIERES J., SERVILLE Y., JACQUOT R. et DUPIN H., 1984. Manuel d'alimentation humaine. Les aliments. Tome 1. Ed. ESF, Paris, p. 166.
- 37- TRIMOLIERES J. SERVILLE Y., JACQUOT R. et DUPIN H , 1984. Manuel d'alimentation humaine. Les bases de l'alimentation. Tome 2. Ed. ESF, Paris, pp.166-179.
- 38- VEISSEYRE R., 1979. Technologie du lait, Ed. La maison rustique, Paris, pp.34-213.
- 39- VIERLING E., 1999. Aliments et boissons: filières et produits. Ed. Doin éditeurs. C.R. de DOC. Pédagogique d'Aquitaine.
- 40- VIGNOLA C.L., 2002. Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed. Ecole polytechnique de Montréal, pp. 3-284.
- 41- WHEATER P.R., YOUNG B., HEATH J.W., 2004. Histologie fonctionnelle. Ed. De Boeck, Paris, pp. 368-370.
- 42- WOLTER R., 1997. Alimentation de la vache laitière. Ed. France agricole, p. 191.

Résumé

Notre étude avait pour but le contrôle de la qualité microbiologique et physico-chimique de 30 échantillons de lait cru et du Lben artisanal vendus au niveau de trois régions de la wilaya de Jijel.

Les résultats physico-chimiques ont montré que :

- Le lait est de bonne qualité avec un pH de 6,72 et une acidité lactique de 18,13°D avec des taux de matière sèche (104 g/l) et minérale (4,39 g/l) peu faibles.
- Le Lben démontre une qualité satisfaisante avec un pH de 4,87 et une acidité de 85,06°D avec des teneurs en matière sèche (94,5 g/l) et minérale (3,32 g/l) peu élevées.

Les analyses microbiologiques ont montré l'absence totale des différentes bactéries pathogènes, par contre une forte contamination fécale a été observé lors de l'analyse des deux produits alimentaires.

Les tests de la sensibilité aux antibiotiques révèlent une forte résistance d'*Escherichia coli* en vers l'AMX, AM et de *streptocoques* envers le S et TE. Cette antibiorésistance pourrait être due à l'utilisation anarchique des antibiotiques.

Mots clés : Lait cru, Lben, qualité microbiologique, physico-chimique, antibiorésistance.

Summary

The purpose of our study was to control the microbiological and physicochemical quality of 30 samples of raw milk and traditional Lben sold with the level of three areas of the wilaya of Jijel.

The physicochemical results showed that:

- Milk is of good quality with a pH of 6,72 and one lactic acidity of 18,13°D with rates of dry matter (104 g/l) and mineral (4,39 g/l) not very low.
- Lben shows a satisfactory quality with a pH of 4,87 and a acidity of 85,06°D with contents of dry matter (94,5 g/l) and mineral (3,32 g/l) relatively low.

The microbiological analyses showed the total absence of the various pathogenic bacteria, on the other hand a strong fecal contamination was observed during the analysis of the two foodstuffs.

The sensitivity tests to antibiotics reveal a strong resistance of *Escherichia coli* towards AMX, AM and of *Streptocoques* towards the S and TE. This antibioresistance could be due to the anarchistic use of antibiotics.

Key words: raw milk, Lben, microbiological, physicochemical quality, antibioresistance.

ملخص:

دراستنا كانت من أجل مراقبة النوعية الميكروبيولوجية والفيزيوكيميائية لـ 30 عينة من الحليب الطازج واللبن المسوقين على مستوى 3 مناطق من ولاية جيجل.

النتائج الفيزيوكيميائية المحصل عليها بينت أن:

- الحليب ذو نوعية جيدة بحيث أن المعامل الهيدروجيني قدر بـ 6,72 ودرجة حموضة لبنية قدرت بـ 18,3°D، في حين سجلنا نسب منخفضة من حيث كمية المادة الجافة (104 غ/ل) والمعدنية (4,3 غ/ل).
- اللبن أظهر هو الآخر نوعية جيدة حيث سجلنا قيم للمعامل الهيدروجيني تقدر بـ 4,87 وللحموضة اللبينية تقدر بـ 85,06°D مع قيم مرتفعة نسبيا من حيث المادة الجافة (94,5 غ/ل) والمعدنية (3,32 غ/ل).

التحاليل الميكروبيولوجية بينت غياب كلي لمختلف أنواع البكتيريا الممرضة مع تسجيل تلوث معتبر من حيث البكتيريا العفوية.

نتائج تأثير المضادات الحيوية أظهرت مقاومة كبيرة لبكتيريا *Escherichia coli* إزاء AMX، AM واتجاه S وTE بالنسبة لبكتيريا *streptocoques*.

هذه المقاومة يمكن أن تعود للاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاح:

الحليب الطازج، اللبن، النوعية الميكروبيولوجية، الفيزيوكيميائية، المقاومة الحيوية.